DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.4

№1/2023

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ

№4

International bulletin of Veterinary Medicine



МЕЖДУНАРОДНЫЙ ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ- 2023

www.spbguvm.ru

Международный ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ 4.2023

Редакционный совет
К.В. Племяшов - гл. ред., чл.-корр. РАН, д-р ветеринар. наук, проф., СПб.
Л.Ю. Карпенко - зам. гл. ред., д-р биол. наук, проф., СПб.
А.И. Ятусевич - зам. гл. ред., д-р ветеринар. наук, проф., академик РАН, Витебск.
Редакционная коллегия
Н.Л. Андреева - д-р биол. наук, проф., СПб.
Л.М. Белова - д-р биол. наук, проф., СПб.
М.И. Гулюкин - акад. РАН, д-р ветеринар. наук, проф., Москва.
Н.В. Зеленевский - д-р ветеринар. наук, проф., СПб.
С.П. Ковалев - д-р ветеринар. наук, проф., СПб.
А.А. Кудряшов - д-р ветеринар. наук, проф., СПб.
В.А. Кузьмин - д-р ветеринар. наук, проф., СПб.
М.Н. Макарова - д-р мед. наук, проф., СПб.
Б.С. Семенов - д-р ветеринар. наук, проф., СПб.
А.М. Смирнов - акад. РАН, д-р ветеринар. наук, проф., Москва.
В.В. Сочнев - член.-корр. РАН, д-р ветеринар. наук, проф., Н. Новгород.
А.А. Стекольников - акад. РАН, д-р ветеринар. наук, проф., СПб.
А.А. Сухинин - д-р биол. наук, проф., СПб.
А.Н. Шиков - д-р фарм. наук, проф., СПб.
Mustafa Atasever- Prof., Dr. Erzurum, Turkiye.
Ю.К. Ковалёнок - д-р ветеринар. наук, проф., Витебск, Республика Беларусь.
Kushvar Galib Mammadova - Dr., Azerbaijan.
Н.Б. Сарсембаева - д-р ветеринар. наук, проф., Алматы, Республика Казахстан.
Ilia Tsachev - DVM, MSc, PhD, DSc Prof., Stara Zagora, Bulgaria.
О.Ю. Беспятых - д-р биол. наук, доц., Киров.
В.А. Илюха - д-р биол. наук, доц., Петрозаводск.
И.А. Плотников - д-р биол. наук, проф., Киров.
С.В. Бекетов - д-р биол. наук, вед. науч. сотр., Самара.
В.Н. Воронин - д-р биол. наук, проф., СПб.
А.Н. Квочко - д-р биол. наук, проф., Ставрополь.
А.О. Фролов - д-р биол. наук, гл. науч. сотр., СПб.
О.И. Станишевская - д-р биол. наук, проф., СПб.
А.Е. Болгов - д-р с.-х. наук, проф., Петрозаводск.
И.Ш. Шапиев - д-р с.-х. наук, проф., СПб.
Н.В. Пристач - д-р с.-х. наук, проф., СПб.
В.Б. Галецкий - д-р с.-х. наук, СПб.
Л.В. Романенко - д-р с.-х. наук, член РАЕ, СПб
В.И. Максимов - д-р биол. наук, проф., Москва
Редакционно-технический отдел
С. И. Мельников - канд. ветеринар. наук, СПб.
О.С. Попова - канд. ветеринар. наук, СПб.
В.В. Крюкова - канд. ветеринар. наук, СПб (англ. яз)

Сдано в набор 17.11.2023
Подписано к печати 04.12.2023
Формат 70×100 1/16.
Бумага глянцевая № 1. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 33,0+0,25 цв. 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. Yatusevich - deputy chief editor, doctor of veterinary sciences , professor, academic of RAS, Vitebsk.
Editorial council
N.L. Andreeva - doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg
L. M. Belova - doctor of biology sciences, professor, St. Petersburg
M.I. Gulyukin - academic of RAS, doctor of veterinary sciences, prof., Moscow
N.V. 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.
B.S. Semenov - doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg
A.M. Smirnov - academic of RAS, doctor of veterinary sciences, prof., Moscow
V.V. Sochnev - corr. member of RAS, doctor of vet. sciences, prof., N. Novgorod.
A.A. Stekolnikov - editor in chief, academic of RAS, doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg
A.A. Sukhinin - doctor of biology sciences., prof, St. Petersburg
A.N. Shikov - doctor of pharmacology sciences, prof., St. Petersburg
Mustafa Atasever - professor., Dr. Erzurum, Turkey
Y.K. Kovalenok - doctor of veterinary sciences, prof., Vitebsk
Kushva Galiba Mammadova - doctor, Azerbaijan
N.B. Sarsembayeva - doctor of vet. sciences, prof., Almaty, Republic of Kazakhstan
Ilia Tsachev - DVM, MSc, PhD, DSc, Prof., Stara Zagora, Bulgaria
O.Yu. Bespyatykh - doctor of biology sciences, associate professor, Kirov
V.A. Ilyuha - doctor of biology sciences, associate professor, Petrozavodsk
I.A. Plotnikov - doctor of biology sciences, professor, Kirov
S.V. Beketov - doctor of biology sciences, Samara
V.N. Voronin - doctor of biology sciences, professor, St. Petersburg
A.N. Kvochko - doctor of biology sciences, professor, Stavropol
A.O. Frolov - doctor of biology sciences, senior science member, St. Petersburg
O.I. Stanishevskaya - doctor of biology sciences, professor, St. Petersburg
A.E. Bolgov - doctor of agricultural sciences, professor, Petrozavodsk
I.S. Shapiev - doctor of agricultural sciences, professor, St. Petersburg
N.V. Pristach - doctor of agricultural sciences, professor, St. Petersburg
V.B. Galetsky - doctor of agricultural sciences, St. Petersburg.
L.V. Romanenko - doctor of agricultural sciences, member of RAE, St. Petersburg
V.I. Maximov - doctor of biology sciences, professor, Moscow
Editorial and technical Department
S.I. Melnikov - PhD of Vet. Med., St. Petersburg
O.S. Popova - PhD of Vet Med., St. Petersburg
V.V. Kriukova - PhD of Vet Med., St. Petersburg (English)

Sent to 17.11.2023
Signed for printing 04.12.2023
The format of 100 × 70 1/16 .
Glossy paper number 1. Offset printing.
Conv. Pec. liter. 33,0+0,25 fl. incl.
Conv. Cr. - ott . 18.2 .
Circulation 1001 copies.

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

НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЖУРНАЛ

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

Учредитель — Федеральное государственное образовательное учреждение высшего образования «Санкт -Петербургский государственный 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.

МВВ 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» (МВВ). тел 8-812 -387-11-58

RESEARCH AND PRODUCTION JOURNAL

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

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

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

International Bulletin of Veterinary Medi -cine 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 disci-plines.

In this magazine, you can place an advertisement for your company. Ads and commer-cial 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 editori -al board on certain issues may not coincide.

Postgraduates are not charged for the pub -lication 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	•*Иммунохроматографический тест для выявления противотуберкулёзных антител. Хаммадов Н.И., Хаертынов К.С., Ахмадеев Р.М., Шангараев Р.И., Усольцев К.В., Хамидуллина А.И., Галеева А.Г.*	**14**
	•*Формирование специфического иммунитета у поросят при вакцинации против цирковирусной инфекции. Шахов А.Г., Сашнина Л.Ю., Владимирова Ю.Ю., Акулова К.О., Никоненко Г.В.*	**21**
	•*Характер экспрессии генов иммунитета птиц при инфицировании GALLID ALPHAHERPESVIRUS 2 и MELEAGRID-ALPHAHERPESVIRUS 1. Тарлавин Н.В., Веретенников В.В., Джавадов Э.Д., Красков Д.А., Сидоренко К.В., Махнин И.А.*	**30**
	•*Роль нейтрофильных гранулоцитов и катионных белков в качестве биомаркеров тяжести течения инфекционных и неинфекционных заболеваний животных. Пименов Н.В., Лаптев С.В., Пермякова К.Ю., Марзанова С.Н., Иванникова Р.Ф.*	**37**
	• *Влияние уровня компартментализации на экспортный потенциал региона, в разрезе Новосибирской и Томской областей. Сенина М.А., Кривецкий К.И., Архипенко Е.В.*	**49**
	• *Изучение эффективности кормовой добавки для сельскохозяйственной птицы «ВИТАСИЛ 2 ПЛЮС». Джавадов Э.Д., Новикова О.Б., Веретенников В.В., Тарлавин Н.В., Красков Д.А., Ярыгина Н.А.*	**57**
	•*Молекулярная характеристика Cryptosporidium scrofarum в свиноводческих хозяйствах Вологодской области Северо-Западного Федерального округа РФ. Кряжев А.Л., Новиков А.С.*	**68**
	•*Оценка IN VITRO пробиотических свойств и бактериоциногенного потенциала штаммов микроорганизмов L. Acidophilus 13, E. Faecium К-50 и их композиции. Живодерова А.И., Самойленко В.С.*	**78**
	•*Патогенные Escherichia coli: факторы вирулентности, распространение, проблемы диагностики. Забровская А.В.*	**87**
	•*Эффективность научно-обоснованных программ мониторинга и лечебно-профилактических мероприятий при управляемых инфекционных болезнях животных. Порываева А.П., Печура Е.В., Петрова О.Г., Безбородова Н.А., Лысова Я.Ю., Белоусова Д.А.*	**96**
Инвазионные болезни	•*Биоразнообразие гельминтов домашних северных оленей в Мурманской области. Логинова О.А., Плотникова Ю.К.*	**111**
	•*Мониторинг эпизоотической ситуации клещевой инвазии на территории г. Ставрополь. Проскурин Д.А., Дилекова О.В.*	**117**
Фармакология, токсикология, фармация	•*Влияние различных препаратов на темпы роста личинок стерляди. Кузьмичева С.В., Микряков Д.В., Новиков Д.А., Салов С.Р.*	**126**
	•*Морфофункциональные изменения в органах репродукции самок на фоне применения фитопрепарата (экспериментальное исследование). Огурной И.В., Бойко Т.В., Кошкарев М.В.*	**133**
	•*Изучение биоэквивалентности препаратов Докситрон жевательные таблетки и Ронаксан при применении собакам. Комаров А.А., Енгашев С.В., Селимов Р.Н., Мироненко А.В., Гончарова Е.Н., Габидуллина Д.Э.*	**143**

	•*Влияние современных гепатотоксикантов на элиминацию кофеина. Попова О.С., Понамарев В.С., Кострова А.В., Агафонова Л.А.*	**154**
	•*Архитектоника паренхиматозных органов белых крыс в условиях индуцированной иммуносупрессии и применения препарата Интерферона лямбда. Востроилова Г.А., Хохлова Н.А., Михайлов Е.В., Шабанов Д.И., Корчагина А.А., Некрасов А.В., Шабунин Б.В.*	**161**
	•*Показатели сократительной активности матки у высокопродуктивных свиноматок при использовании супрафизиологических доз окситоцина Филатов А.В., Минин А.В.*	**173**
	•*Элиминация 1,3,7-триметил-ксантина у лабораторных животных при индуцировании жирового гепатоза. Попова О.С., Понамарев В.С., Кострова А.В.*	**179**
	•*Антигельминтная эффективность препарата Экспресстабс при гельмнитозах собак. Токарев А.Н., Токарева О.А.*	**186**
Зоогигиена, санитария, кормление	•*Влияние липосомальной кормовой добавки на обеспеченность организма коров витамином А и каротином. Хоменко Р.М., Александров В.В., Сафронов С.Л.*	**190**
	•*Влияние ферментной добавки в сочетании с цинком в ультрадисперсной форме на продуктивные показатели цыплят-бройлеров. Нечитайло К.С., Сизова Е.А., Рязанцева К.В., Кван О.В.*	**197**
	•*К вопросу об идентификации многоядной мухи-горбатки Megaselia scalaris (LOEW). Жмуркина П.С., Будович М.В., Карпенко А.А., Калюжная Т.В., Орлова Д.А.*	**206**
Биохимия, анатомия, физиология	•*Кровоснабжение желудка свиней породы йоркшир на этапах постнатального онтогенеза. Полянская А.И., Щипакин М.В.*	**213**
	•*Статистическая оценка концентрации антимюллерова гормона и биохимических показателей крови коров-доноров в лютеиновую фазу цикла. Козицына А.И., Карпенко Л.Ю., Никитин Г.С., Ачилов В.В., Олонцев В.А., Семенова В.С.*	**221**
	•*Характеристики эритропоэза у свиноматок в различные периоды производственного цикла. Воронина О. А., Зайцев С. Ю.*	**227**
	•*Анализ возрастной динамики морфологических показателей крови форели радужной в условиях аквакультуры. Карпенко Л.Ю., Сидорова Н.А., Полистовская П.А., Бахта А.А., Савушкин А.И., Бабич О.О., Сухих С.А., Никонов И.Н.*	**236**
	•*Особенности строения нижней челюсти ежа обыкновенного в связи с их типом питания. Глушонок С.С., Зеленевский Н.В.*	**244**
	•*Анатомо-топографические особенности фасций ягодично-бедренной области у рыси обыкновенной. Слесаренко Н.А., Оганов Э.О., Широкова Е.О.*	**250**
	•*Перспективы применения бурых водорослей в качестве природного адаптогена. Карпенко Л.Ю., Сидорова Н.А., Полистовская П.А., Бахта А.А., Савушкин А.И., Бабич О.О., Сухих С.А., Никонов И.Н.*	**263**
	•*Теоретическое обоснование требований к интеллектуальной системе видеомониторинга для анализа физиологического состояния коров и прогнозирования его изменения. Ачилов В.В., Олонцев В.А.*	**269**

	•*Особенности адаптации организма индеек в условиях птицефабрики. Козлова С.В., Веремеева С.А., Краснолобова Е.П., Черменина Н.А., Ломдо А.И.*	**276**
	•*Оценка биохимического статуса Parasaimo mykiss walbaum в условиях форелевого хозяйства, как основа для разработки природного адаптогена на основе зеленых микроводорослей. Карпенко Л.Ю., Сидорова Н.А., Полистовская П.А., Бахта А.А., Савушкин А.И., Бабич О.О., Сухих С.А., Никонов И.Н.*	**285**
	•*Анализ применения готовых рационов Expert hepatic для взрослых кошек забота о печени компании Мираторг. Карпенко Л.Ю., Бахта А.А.*	**293**
	•*Влияние физической активности на проявление возрастных дегенеративных изменений нервно-мышечного аппарата у собак. Александрова Е.Ю., Крячко О.В.*	**299**
	•*Архитектоника левой коронарной артерии бурого медведя. Хватов В.А., Былинская Д.С.*	**306**
	•*Морфологическое исследование перешейка яйцевода у курицы кросс Хайсекс белый. Диких А.А., Фоменко Л.В., Первенецкая М.В.*	**315**
	•*Возрастные анатомические особенности бедренной кости соболя черной пушкинской породы в условиях ограниченной подвижности. Яволовская Я.О., Щипакин М.В.*	**320**
	•*Зависимость коагуляционной активности крови кур IN VITRO от температуры. Фомина Л.Л., Березина Д.И., Кулакова Т.С., Моданова К.Э.*	**327**
	•*Особенности морфологии стенки тонкого кишечника суточных перепелов мясных пород. Головченко Т.С., Лемещенко В.В., Макалиш Т.П.*	**335**
	•*Артериальная васкуляризация тазовой конечности плода северного оленя. Былинская Д.С., Хватов В.А.*	**340**
	•*Лимфатическое русло ротовой полости у овец эдильбаевской породы. Мельников С.И., Васильев Д.В.*	**347**
Акушерство и гинекология	•*Качественные показатели спермы козлов-производителей до и после криоконсервации. Корочкина Е.А., Трифонова А.В., Финагеев Е.Ю., Главацкая Д.Е., Пушкина В.С.*	**353**
	•*Роль синдрома хронического системного воспаления у стельных коров в развитии антенатальной патологии печени у новорожденных телят. Паршин П.А., Востроилова Г.А., Бригадиров Ю.Н., Шапошников И.Т., Жуков М.С., Акулова К.О.*	**361**
	•*Влияние митохондриально-направленного антиоксиданта mito-tempo на показатели качества спермы петухов в цикле криоконсервации и лиофилизации. Курочкин А.А., Станишевская О.И., Силюкова Ю.Л., Плешанов Н.В.*	**370**
	•*Липидный состав плазматических мембран сперматозоидов петухов (Gallus gallus domesticus) и его динамика в процессе криоконсервации. Станишевская О.И., Силюкова Ю.Л.*	**379**
	•*Влияние концентрации β-гидроксибутирата и глюкозы в крови на репродуктивную функцию и молочную продуктивность коров. Николаев С.В.*	**388**

	•*Оценка возможности использования показателей свёртывающей системы крови коров для прогнозирования позднего токсикоза беременных. Михалёв В.И., Чусова Г.Г.*	**396**
	•*Лабораторные методы для определения маркера пролиферативной активности ki-67 в плаценте коров при осложненной беременности и патологических родах. Авдеенко В.С., Макавчик С.А., Сафронов Д.И., Моисеева К.А.*	**403**
	•*Генетические основы качества спермы жеребцов. Никиткина Е.В.*	**413**
	•*Влияние мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани и костного мозга козлов на качественные показатели их сперматозоидов. Корочкина Е.А., Трифонова А.В., Финагеев Е.Ю., Главацкая Д.Е., Пушкина В. С.*	**421**
	•*Микробный пейзаж половых путей здоровых коров с различным сроком стельности. Паршин П.А., Востроилова Г.А., Бригадиров Ю.Н., Шапошников И.Т., Жуков М.С., Манжурина О.А., Перепелкина И.С., Якимчук О.В.*	**431**
	•*Концентрация антимюллерова гормона в сыворотке крови северных оленей в зависимости от уровня половых гормонов. Крутикова А.А., Никиткина Е.В., Ширяев Г.В., Пегливанян Г.К., Мусидрай А.А., Никитин Г.С.*	**438**
	•*Изучение анаболических аспектов лактации у коров в связи с интенсивностью кетогенеза в новотельный период. Васильева С.В.*	**447**
Хирургия	•*Сочетания стеноза клапана легочной артерии с другими врожденными пороками сердца у собак. Трунов А.А.*	**457**
	•*Влияние нестероидных и стероидных противовоспалительных препаратов на активацию тромбоцитов IN VITRO. Бокарев А.В., Минина А.О., Горохов В.Е.*	**463**
	•*Сроки удержания диагностических красителей на резаной ране роговицы. Минина А.О., Бокарев А.В., Пилипец Е.Я., Прудникова Е.В.*	**473**
	•*Изменения газового состава пуповинной крови новорожденных после кесарева сечения с применением различных протоколов общей анестезии у собак. Садоведов К.П., Нечаев А.Ю., Племяшов К.В.*	**480**
	•*Субконъюнктивальное введение «Актилизе» для лечения небольших кровоизлияний в передней камере глаза при артериальной гипертензии кошек. Аргунов М.Н.*	**486**
Незаразные болезни	•*Морфологический и биохимический профиль крови молочных коров, пораженных травматическим ретикулитом. Попова Е.Л., Рыжаков А.В., Ошуркова Ю.Л., Фомина Л.Л.*	**492**
	•*Коррекция некоторых показателей обмена веществ у коров в период раздоя с помощью кормовой добавки. Ситчихина А.В., Сайтханов Э.О., Герцева К.А., Никулова Л.В.*	**498**
	•*Эффективность применения кормовых добавок при хронической болезни почек у кошек. Федоткина С.Н., Шинкаренко А.Н., Струсовская О.Г.*	**507**

•*Исследование метаболизма и функционирования антиоксидантной системы у кошек с трипельфосфатным уролитиазом. Ушакова Т.М., Дерезина Т.Н., Чичиленко В.С.* **515**

CONTENTS

Infectious diseases	•*An immunochromatographic test for the detection of anti-tuberculosis antibodies. Hammadov N.I., Khaertynov K.S., Akhmadeev R.M., Shangaraev R.I., Usoltsev K.V., Khamidullina A.I., Galeeva A.G.*	**14**
	•*Formation of specific immunity in piglets during vaccination against circovirus infection. Shakhov A.G., Sashnina L.Yu., Vladimirova Yu.Yu., Akulova K.O., Nikonenko G.V.*	**21**
	•*The nature of expression of avian immunity genes during infection with GALLID ALPHAHERPESVIRUS 2 and MELEAGRIDALPHAHERPESVIRUS 1. Tarlavin N.V., Veretennikov V.V., Javadov E.D., Kraskov D.A., Sidorenko K.V., Makhnin I.A.*	**30**
	•*The role of neutrophilic granulocytes and cationic proteins as biomarkers of the severity of the course of infectious and non-communicable animal diseases. Pimenov N.V., Laptev S.V., Permyakova K.Yu., Marzanova S.N., Ivannikova R.F.*	**37**
	•*The influence of the level of compartmentalization on the export potential of the region, in the context of the Novosibirsk and Tomsk regions. Senina M.A., Krivetsky K.I., Arkhipenko E.V.*	**49**
	•*Studying the effectiveness of a feed additive for poultry "VITASIL 2 PLUS". Javadov E.D., Novikova O.B., Veretennikov V.V., Tarlavin N.V., Kraskov D.A., Yarygina N.A.*	**57**
	•*Molecular characteristics of Cryptosporidium scrofarum in pig farms of the Vologda region of the Northwestern Federal District of the Russian Federation. Kryazhev A.L., Novikov A.S.*	**68**
	•*IN VITRO evaluation of probiotic properties and bacteriocinogenic potential of strains of microorganisms L. Acidophilus 13, E. Faecium K-50 and their compositions. Zhivoderova A.I., Samoylenko V.S.*	**78**
	•*Pathogenic Escherichia coli: virulence factors, spread, diagnostic problems. Zabrovskaya A.V.*	**87**
	•*The effectiveness of scientifically based monitoring programs and therapeutic and preventive measures for controlled infectious diseases of animals. Poryvaeva A.P., Pechura E.V., Petrova O.G., Bezborodova N.A., Lysova Ya.Yu., Belousova D.A.*	**96**
Invasive diseases	•*The biodiversity of helminths of domestic reindeer in the Murmansk region. Loginova O.A., Plotnikova Y.K.*	**111**
	•*Monitoring of the epizootic situation of tick infestation in the territory of Stavropol. Proskurin D.A., Dilekova O.V.*	**117**
Pharmacology, toxicology, pharmacy	•*The effect of various drugs on the growth rate of sterlet larvae. Kuzmicheva S.V., Mikryakov D.V., Novikov D.A., Salov S.R.*	**126**
	•*Morphofunctional changes in the reproductive organs of females against the background of the use of a phytopreparation (experimental study). Ogurnoy I.V., Boyko T.V., Koshkarev M.V.*	**133**
	•*To study the bioequivalence of the drugs Doxitron chewable tablets and Ronaxan when used in dogs. Komarov A.A., Engashev S.V., Selimov R.N., Mironenko A.V., Goncharova E.N., Gabidullina D.E.*	**143**
	•*The effect of modern hepatotoxicants on the elimination of caffeine. Popova O.S., Ponomarev V.S., Kostrova A.V., Agafonova L.A.*	**154**

	•*Architectonics of parenchymal organs of white rats under conditions of induced immunosuppression and the use of Interferon lambda. Vostroilova G.A., Khokhlova N.A., Mikhailov E.V., Shabanov D.I., Korchagina A.A., Nekrasov A.V., Shabunin B.V.*	**161**
	•*Indicators of uterine contractile activity in highly productive sows using supraphysiological doses of oxytocin Filatov A.V., Minin A.V.*	**173**
	•*Elimination of 1,3,7-trimethylxanthine in laboratory animals during the induction of fatty hepatosis. Popova O.S., Ponomarev V.S., Kostrova A.V.*	**179**
	•*The anthelmintic efficacy of the drug Express tabs in helminthiasis of dogs. Tokarev A.N., Tokareva O.A.*	**186**
Zoohygiene, sanitation, feeding	•*The effect of liposomal feed additives on the provision of vitamin A and carotene in cows. Khomenko R.M., Alexandrov V.V., Safronov S.L.*	**190**
	•*The effect of an enzyme additive in combination with zinc in an ultrafine form on the productive performance of broiler chickens. Nechitailo K.S., Sizova E.A., Ryazantseva K.V., Kvan O.V.*	**197**
	•*On the identification of the omnivorous humpback fly Megaselia scalaris (LOEW). Zhmurkina P.S., Budovich M.V., Karpenko A.A., Kalyuzhnaya T.V., Orlova D.A.*	**206**
Biochemistry, morphology, physiology	•*Blood supply to the stomach of Yorkshire pigs at the stages of postnatal ontogenesis. Polyanskaya A.I., Shchipakin M.V.*	**213**
	•*Statistical assessment of the concentration of anti-Muller hormone and biochemical parameters of the blood of donor cows in the luteal phase of the cycle. Kozitsyna A.I., Karpenko L.Yu., Nikitin G.S., Achilov V.V., Olontsev V.A., Semenova V.S.*	**221**
	•*Characteristics of erythropoiesis in sows during different periods of the production cycle. Voronina O. A., Zaitsev S. Yu.*	**227**
	•*Analysis of the age dynamics of morphological parameters of rainbow trout blood in aquaculture conditions. Karpenko L.Yu., Sidorova N.A., Polistovskaya P.A., Bakhta A.A., Savushkin A.I., Babich O.O., Sukhoi S.A., Nikonov I.N.*	**236**
	•*Features of the structure of the lower jaw of the common hedgehog in connection with their type of nutrition. Glushonok S.S., Zelenevsky N.V.*	**244**
	•*Anatomical and topographic features of fascia of the gluteal-femoral region in the common lynx. Slesarenko N.A., Oganov E.O., Shirokova E.O.*	**250**
	•*Prospects for the use of brown algae as a natural adaptogen. Karpenko L.Yu., Sidorova N.A., Polistovskaya P.A., Bakhta A.A., Savushkin A.I., Babich O.O., Sukhoi S.A., Nikonov I.N.*	**263**
	•*Theoretical substantiation of the requirements for an intelligent video monitoring system for analyzing the physiological state of cows and predicting its changes. Achilov V.V., Olontsev V.A.*	**269**
	•*Features of the adaptation of the turkeys' body in a poultry farm. Kozlova S.V., Veremeeva S.A., Krasnolobova E.P., Cheremenina N.A., Lomo A.I.*	**276**

	•*Assessment of the biochemical status of Parasalmo mykiss walbaum in trout farming conditions as a basis for the development of a natural adaptogen based on green microalgae. Karpenko L.Yu., Sidorova N.A., Politkovskaya P.A., Bakhta A.A., Savushkin A.I., Babich O.O., Sukhoi S.A., Nikonov I.N.*	**285**
	•*Analysis of the use of ready-made Expert hepatic diets for adult cats liver care company Miratorg. Karpenko L.Yu., Bakhta A.A.*	**293**
	•*The effect of physical activity on the manifestation of age-related degenerative changes in the neuromuscular apparatus in dogs. Alexandrova E.Yu., Kryachko O.V.*	**299**
	•*Architectonics of the brown bear's left coronary artery. Khvatov V.A., Bylinskaya D.S.*	**306**
	•*Morphological examination of the isthmus of the oviduct in the cross Hysex white chicken. Dikikh A.A., Fomenko L.V., Pervenetskaya M.V.*	**315**
	•*Age-related anatomical features of the femur of the sable of the Black Pushkin breed in conditions of limited mobility. Yavolovskaya Ya.O., Shchipakin M.V.*	**320**
	•*Dependence of coagulation activity of chicken blood IN VITRO on temperature. Fomina L.L., Berezina D.I., Kulakova T.S., Modanova K.E.*	**327**
	•*Morphological features of the wall of the small intestine of diurnal quails of meat breeds. Golovchenko T.S., Lemeshchenko V.V., Makalish T.P.*	**335**
	•*Arterial vascularization of the pelvic limb of the reindeer fetus. Bylinskaya D.S., Khvatov V.A.*	**340**
	•*The lymphatic bed of the oral cavity in sheep of the Edilbaev breed. Melnikov S.I., Vasiliev D.V.*	**347**
Obstetrics, gynecology	•*Qualitative indicators of sperm from producing goats before and after cryopreservation. Korochkina E.A., Trifonova A.V., Finageev E.Yu., Glavatskaya D.E., Pushkina V.S.*	**353**
	•*The role of chronic systemic inflammation syndrome in pregnant cows in the development of antenatal liver pathology in newborn calves. Parshin P.A., Vostroilova G.A., Brigadirov Yu.N., Shaposhnikov I.T., Zhukov M.S., Akulova K.O.*	**361**
	•*The effect of the mitochondrial-directed antioxidant mito-tempo on the quality of rooster sperm in the cryopreservation and lyophilization cycle. Kurochkin A.A., Stanishevskaya O.I., Silyukova Y.L., Pleshanov N.V.*	**370**
	•*Lipid composition of plasma membranes of rooster sperm (Gallus gallus domesticus) and its dynamics during cryopreservation. Stanishevskaya O.I., Silyukova Y.L.*	**379**
	•*The effect of the concentration of β-hydroxybutyrate and glucose in the blood on the reproductive function and milk productivity of cows. Nikolaev S.V.*	**388**
	•*Evaluation of the possibility of using indicators of the blood coagulation system of cows to predict late toxicosis of pregnant women. Mikhalev V.I., Chusova G.G.*	**396**

	•*Laboratory methods for determining the marker of proliferative activity of ki-67 in the placenta of cows in complicated pregnancy and pathological childbirth. Avdeenko V.S., Makavchik S.A., Safronov D.I., Moiseeva K.A.*	**403**
	•*The genetic basis of the sperm quality of stallions. Nikitkina E.V.*	**412**
	•*The effect of mesenchymal stem cells from the adipose tissue and bone marrow of goats on the quality of their sperm cells. Korochkina E.A., Trifonova A.V., Finogeev E.Yu., Glavatskaya D.E., Pushkina V. S.*	**421**
	•*The microbial landscape of the genital tract of healthy cows with different gestation periods. Parshin P.A., Vostroilova G.A., Brigadirov Yu.N., Shaposhnikov I.T., Zhukov M.S., Manzhurina O.A., Perepelkina I.S., Yakimchuk O.V.*	**431**
	•*The concentration of anti-muller hormone in the blood serum of reindeer depends on the level of sex hormones. Krutikova A.A., Nikitkina E.V., Shiryaev G.V., Peglivanyan G.K., Musidray A.A., Nikitin G.S.*	**438**
	•*To study the anabolic aspects of lactation in cows in connection with the intensity of ketogenesis in the new body period. Vasilyeva S.V.*	**447**
Surgery	•*Combinations of pulmonary artery valve stenosis with other congenital heart defects in dogs. Trunov A.A.*	**457**
	•*The effect of nonsteroidal and steroid anti-inflammatory drugs on platelet activation IN VITRO. Bokarev A.V., Minina A.O., Gorokhov V.E.*	**463**
	•*Retention periods of diagnostic dyes on a cut corneal wound. Minina A.O., Bokarev A.V., Pilipets E.Ya., Prudnikova E.V.*	**473**
	•*Changes in the gas composition of umbilical cord blood of newborns after cesarean section using various protocols of general anesthesia in dogs. Sadovedov K.P., Nechaev A.Yu., Plemyashov K.V.*	**480**
	•*Subconjunctival administration of "Actilize" for the treatment of small hemorrhages in the anterior chamber of the eye in cats with arterial hypertension. Argunov M.N.*	**486**
Non-communicable diseases	•*Morphological and biochemical blood profile of dairy cows affected by traumatic reticulitis. Popova E.L., Ryzhakov A.V., Oshurkova Y.L., Fomina L.L.*	**492**
	•*Correction of some metabolic parameters in cows during the milking period with the help of a feed additive. Sitchikhina A.V., Saitkhanov E.O., Hertseva K.A., Nikulova L.V.*	**498**
	•*The effectiveness of feed additives in chronic kidney disease in cats. Fedotkina S.N., Shinkarenko A.N., Strusovskaya O.G.*	**507**
	•*Investigation of metabolism and functioning of the antioxidant system in cats with tripelphosphate urolithiasis. Ushakova T.M., Derezina T.N., Chichilenko V.S.*	**515**

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК: 619:616.097:579.873.21
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.14

ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ ТЕСТ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЁЗНЫХ АНТИТЕЛ

Хаммадов Н.И. [1 *] – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-5669-1486); **Хаертынов К.С.** [1] – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-4764-560X); **Ахмадеев Р.М.** [1] – канд. ветеринар. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-1732-6977); **Шангараев Р.И.** [1] – канд. ветеринар. наук, науч. сотр. (ORCID 0000-0003-3689-1442); **Усольцев К.В.** [1] – канд. ветеринар. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-5279-9836); **Хамидуллина А.И.** [2] – студент 4 курса факультета ветеринарной медицины (ORCID 0000-0001-5593-2399); **Галеева А.Г.** [1] – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-2650-6459).

[1] ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности».
[2] ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана».

*nikhammadov@mail.ru

Ключевые слова: *иммунохроматография, туберкулёз, антитела, антиген, диагностика.*
Key words: *immunochromatography, tuberculosis, antibodies, antigen, diagnostics.*

Поступила: 02.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Туберкулёз – опасное социально значимое заболевание разных видов животных. По данным Россельхознадзора за 2022 год, ситуация по туберкулёзу крупного рогатого скота является эндемичной, стабильной, многолетние тренды убывающие, эпидемические пороги по неблагополучию и заболеваемости не преодолены. Следует отметить, что в 2022 году официально заболевание туберкулёзом крупного рогатого скота не обнаружено, но было отмечено наличие данной инфекции у нескольких свиней и кабанов. Судя по снижению количества заболевшего туберкулёзом крупного рогатого скота, общая стратегия борьбы с данным заболеванием успешна, но это не означает, что полностью не исключает потребности в разработке новых тестов. Безопасность обслуживающего персонала напрямую зависит от минимизации риска инфицирования возбудителями заболеваний, общих для человека и животных, одним из которых является туберкулёз. Самым быстрым способом индикации инфекционных агентов является иммунохроматографический анализ. Данная публикация посвящена деталям, на которых желательно акцентировать внимание при разработке диагностического теста, основанного на иммунохроматографическом анализе, на примере туберкулёза крупного рогатого скота. В качестве сенсибилизирующей основы тестовой зоны в представленном исследовании использованы нативные

антигены *Mycobacterium bovis*, выращенные на питательной среде Левенштейна-Йенсена, обладающие доказанной антигенной активностью. Конъюгацию антивидовых антител осуществляли с коллоидным раствором золота, диаметр частиц которого составил (25,0±0,9) нм. В ходе работы показаны оптимальные условия изготовления диагностического теста для выявления противотуберкулёзных антител методом иммунохроматографического анализа.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Туберкулёз – опасное, социально значимое инфекционное заболевание, заражению которым подвержены животные и человек. Наибольшая опасность данной инфекции заключается в совокупности негативных обстоятельств, среди которых – хроническое течение заболевания, что затрудняет быстрое определение начала инфекционного процесса, частое наличие штаммов с лекарственной устойчивостью, в том числе с множественной устойчивостью к терапевтическим средствам (больше относится к *Mycobacterium tuberculosis*), длительность роста на питательных средах (особо актуально при определении лекарственной устойчивости путём посева на питательные среды с тестируемыми антибиотиками при лечении человека), способность возбудителей туберкулёза (*M. tuberculosis, M. bovis, M. africanum*) инфицировать различные биологические виды. Касательно туберкулёза крупного рогатого скота ситуацию может усугублять затруднённая диагностика, серологические и аллергические тесты могут давать ложные результаты, что связано с ослаблением иммунной системы животного, возникающего вследствие тяжелого протекания иных инфекционных заболеваний, либо проблемами неинфекционного характера [1, 2]. Стратегия борьбы с туберкулёзом крупного рогатого скота, применяемая в нашей стране, оказалась достаточно успешной. Так, по данным Россельхознадзора, в 2022 году новых случаев заболевания среди коров не выявлено. Однако в 2021 и в предшествующих годах заболевание регистрировалось регулярно [3]. Аллергические, серологические и генетические методы диагностики показали свою эффективность в рамках общей стратегии борьбы с туберкулёзом крупного и мелкого рогатого скота. Однако от начала исследования (инъекция туберкулина или взятие материала для серологической или генетической диагностики) до получения результата исследования может пройти не один день. В ходе ведения животноводства существуют ситуации (проведение срочных хирургических операций, родовспоможение и другие процедуры, связанные с контактом с животными), когда нужно в максимально короткий срок определить вероятность инфицирования животного опасными для человека заболеваниями (в первую очередь туберкулёзом и бруцеллёзом). В данном случае одной из самых быстрых реакций является иммунохроматографический анализ (ИХА). Указание наиболее значимых аспектов разработки ИХА тестов на примере возбудителя туберкулёза крупного рогатого скота стало целью представленной публикации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Для выделения антигенов микобактерий туберкулёза (*M. bovis*, штамм *bovinus 8 – 700201)*, культивировали на питательной среде Левенштейна-Йенсена в течение 1-2 месяцев – до появления видимого роста бактерий, не допуская их перерастания, после чего выделяли антигены [4].

Иммунизацию кроликов (порода шиншилла, вес 2 кг) и овец (романовская порода, вес 30 кг) проводили по методу Балли [5]. Кроликов иммунизировали антигенами микобактерий, получаемыми в рамках данного исследования в дозе 100 мг на голову. Овец иммунизировали иммуноглобулинами кроликов и крупного рогатого скота в дозе 0,1 мг на килограмм массы овцы. Указанные дозы при иммунизации кроликов и овец сохранялись при каждом введении. Антителогенез контролировали в реакции иммунодиффузии. Из гипериммунных и антивидовых

сывороток выделяли иммуноглобулины класса G методами последовательного осаждения сульфатом аммония, анионообменной хроматографии.

Контроль чистоты IgG осуществляли методом нативного электрофореза на ацетатцеллюлозных мембранах, концентрацию иммуноглобулинов определяли на спектрофотометре «Nanodrop 2000» («Thermo Scientific», США).

Наночастицы коллоидного золота со средним диаметром 25 нм получали из золотохлористоводородной кислоты (ЗХВК) (ООО «Аурат», Россия) модифицированным методом Туркевича-Френса [6, 7], при этом объемы 1 % раствора ЗХВК и 1 % раствора цитрата натрия на 50 мл реакционной смеси составляли 0,58 и 0,72 мл соответственно. О формировании наночастиц судили по изменению окраски раствора с бледно-голубого на фиолетовый и впоследствии – рубиновый, что свидетельствует о завершении процесса коалесценции зародышей наночастиц. После появления стабильной окраски при отсутствии признаков флоккуляции полученный золь охлаждали до комнатной температуры и доводили pH до 9,0 при помощи 0,2 М K_2CO_3.

Иммобилизацию очищенных IgG (антитела овцы против кроликов и против коровы), предварительно диализованных против 2 мМ боратно-HCl-буфера (pH 9,0) и коммерческих конъюгатов с пероксидазой хрена (Sigma Aldrich, США), на наночастицах коллоидного золота выполняли по модифицированной методике Сотникова Д.В. [8], в различных модификациях. Для формирования мультимембранных композитов – основы ИХА тестов – использовали комплект нитроцеллюлозных мембран и подложек «MDI Easypack» («MDI», Индия).

Предлагаемая модель теста представляет собой композит с аналитической мембраной [9], где тестовая зона – антиген *M. bovis* молекулярной массой 28 кДА, контрольная зона – иммуноглобулины целевого вида животного (в одном случае кролик, в другом крупный рогатый скот). Принцип таков, что антитела в аналите связываются сначала с конъюгатом, образуя комплекс, потом данный комплекс связывается с антигеном тестовой зоны (в случае если в аналите были специфические анитела), далее по ходу движения жидкости конъюгат связывается с иммуноглобулинами контрольной зоны, в результате чего в соответствующих зонах теста образуются окрашенные полосы/доты.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Ключевым компонентом диагностического теста для выявления в исследуемых образцах антител является специфичный иммуногенный антиген. В данном исследовании мы использовали антиген, полученный из клеточных стенок *M. bovis* во фракциях после хроматографической очистки, в которых присутствовал отдельно антиген молекулярной массой 28 кДа (по результатам электрофореза в ПААГ) специфичный в вестерн-блоте с гипериммунной сывороткой крови кролика против цельного возбудителя туберкулёза. Модель антигена с молекулярной массой 28 кДа была взята за основу ввиду стандартизации получения данного антигена и его выраженных иммуногенных свойств, однако в полевых условиях необходимо применение мультиантигенного подхода [1, 10, 11]. Для нанесения на нитроцеллюлозную мембрану в нашем случае рабочая концентрация составила от 10 мг/мл, что существенно превышает расход антигена в ИФА даже несмотря на то, что объем наносимого антигена на одну мембрану (для сенсибилизации аналитической зоны нитроцеллюлозной мембраны шириной 5 мм, что соответствует одному готовому тесту для ИХА) составляет около 0,2-0,3 мкл. При инструментальном производстве тестов нанесение антигена на мембрану осуществляется диспенсером, но на этапе первичной разработки покупка такого прибора будет весьма затратной. В данном случае эффективным представляется нанесение антигена не в виде полосы, что зачастую невозможно сделать равномерно при мануальном нанесении, а в виде точки (дота). Контрольный антиген – сыворотка крови це-

левого животного (предпочтительнее применять очищенные иммуноглобулины) эффективно работает при разведении 1:100 на карбонат-бикарбонатном буфере, нанесение аналогично целевому антигену, в область мембраны для контроля реакции.

Относительно применяемых для конъюгации антивидовых антител в лабораториях, профиль деятельности которых заключается в разработке тестов для серологической диагностики различных возбудителей инфекционных заболеваний, всегда имеются различные антивидовые конъюгаты – антитела, меченные щелочной фосфатазой, пероксидазой хрена либо иной меткой, либо вовсе немеченые антивидовые антитела. В данном исследовании мы применяли и самостоятельно полученные антитела овцы против крупного рогатого скота и против кролика, и аналогичные антитела, меченные пероксидазой хрена. Применение антител как против коровы, так и против кролика обусловлено тем, что крупный рогатый скот является основной моделью для разработки теста, а кролик является контрольной моделью для проверки специфичности проявления реакции, так как гипериммунная сыворотка крови против туберкулёза получена именно от кроликов. В конечном итоге для конъюгирования коллоидного золота (в нашем исследовании оптимальный средний размер частиц коллоидного золота составил 25 нм, расчётный размер по данным электронной микроскопии соответствовал фактическому) подходят и немеченые антитела, и в виде конъюгатов (при наличии антител без метки предпочтительны последние). В случае применения конъюгированных антител рекомендуется предварительно инкубировать их в кислых растворах (pH 4,0) в течение 2-5 минут, далее незамедлительно перенести антитела в раствор коллоидного золота (pH 9,0), после чего осуществить конъюгацию согласно протоколу. В настоящем исследовании мы применяли различные конъюгаты: по стандартному протоколу с последующей фильтрацией через шприцевые фильтры (диаметр пор 0,45 мкм), с полной заменой среды высушивания на смесь, содержащую 40% сорбита с трегалозой, БСА, фенилметилсульфилфосфат, ПЭГ (либо тритон Х-100), трис-HCl (0,025М), в том числе с последующей фильтрацией через шприцевой фильтр. После получения конъюгаты были нанесены на стекловолоконную мембрану (расход конъюгата 50-60 мкл на $см^2$ мембраны) и высушены под вакуумом. Все варианты конъюгата были работоспособны (проявление положительной контрольной реакции, в виде изменения цвета контрольной зоны с белого на розово-фиолетовый); следует отметить, что наиболее эффективная миграция конъюгата происходит со стекловолоконных мембран, предварительно обработанных фосфатным буфером, содержащим 0,1 % твин-20 и 10% глицерина (расход буфера 10-20 мкл на $см^2$ мембраны).

Анализируемую сыворотку наносили в разведении 1:4, однако в ряде случаев наблюдалось ингибирование реакции сывороткой крови в концентрации до 1:200. Нарезание индивидуальных полос для анализа необходимо выполнять гильотинным резчиком, так как при отрезании ножницами в ряде случаев образуются зазубрины на краях нитроцеллюлозы, и анализируемый образец может мигрировать за пределы мембраны.

На начальной стадии разработки ИХА теста допускается проводить пробные анализы не посредством точечного нанесения образца на мембрану, а в формате дипстика, подразумевающем погружение тест-полоски в пробирку с анализируемым раствором».

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В связи со сложным инфекционным процессом при туберкулёзе, а именно – нестерильным иммунитетом и вариабельностью антигенного профиля в различные стадии развития инфекции – при индикации антител против туберкулёза необходимо применять мультиантигенный подход.

Исходя из полученных результатов, можно резюмировать следующее: подбор концентрации необходимо проводить для

каждого тестируемого антигена, для конъюгирования можно использовать как чистые (без меток) антитела, так и другие конъюгаты (оптимальный средний размер частиц коллоидного золота в нашем случае составил 25 нм), мембраны для нанесения конъюгата желательно предварительно обработать буфером, содержащим твин-20 и глицерин, нарезать мембраны для последующего применения предпочтительно гильотинным резчиком.

IMMUNOCHROMATOGRAPHIC TEST FOR THE DETECTION OF ANTI -TUBERCULOSIS ANTIBODIES

Khammadov N. I. [1] – Ph.D of Biological Sciences, Leading Researcher (ORCID 0000 -0001-5669-1486), **Khaertynov K. S.** [1] – Ph.D of Biological Sciences, Leading Researcher (ORCID 0000-0003-4764-560X), **Akhmadeev R. M.** [1] – Ph.D of Veterinary Sciences, Leading Researcher (ORCID 0000 -0002-1732-6977), **Shangaraev R. I.** [1] – Ph.D of Veterinary Sciences, Researcher (ORCID 0000-0003-3689-1442), **Usoltcev K. V.** [1] – Ph.D of Veterinary Sciences, Leading Researcher (ORCID 0000-0001-5279-9836), **Khamidullina A. I.** [2] – 4th year student of the Faculty of Veterinary Medicine (ORCID 0000-0001-5593-2399), **Galeeva A. G.** [1] - Ph.D of Veterinary Sciences, Senior Researcher(ORCID 0000-0003 -2650-6459).

[1] Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety

[2] Kazan State Academy of Veterinary Medicine

*nikhammadov@mail.ru

ABSTRACT

Tuberculosis is a dangerous socially significant disease of various animal species. According to Rosselkhoznadzor data for 2022, the situation with bovine tuberculosis is endemic, stable, long-term trends are decreasing, epidemic thresholds for ill health and incidence have not been overcome. It should be noted that in 2022, bovine tuberculosis was not officially detected, but this infection was registered in several pigs and wild boars. Take a point that the reduction in the number of cases of tuberculosis in cattle is decreased (to zero), the overall strategy for combating this disease is successful, but this does not mean that the need to develop new tests for the accelerated diagnosis of this infection has completely disappeared. The safety of service personnel directly depends on minimizing the risk of infection with pathogens common to humans and animals, one of which is tuberculosis. The fastest way to indicate infectious agents is by immunochromatographic analysis. This publication is devoted to the details that it is desirable to focus on when developing a diagnostic test based on immunochromatographic analysis, using the example of bovine tuberculosis. As an antigen in the presented study, native antigens of Mycobacterium bovis grown on a nutrient medium Levenshtein-Jensen with proven antigenic activity were used. Conjugation of antispecies antibodies was carried out with a colloidal solution of gold, (diameter of particle is 25±0,9 nm). In the course of the work, the optimal conditions for the manufacture of a diagnostic test for the detection of anti-tuberculosis antibodies by immunochromatographic analysis were shown.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Оценка иммунохроматографического теста на основе мультиантигенов Mycobacterium bovis / Э. А. Шуралев // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2017. – Т. 230, № 2. – С. 190-193.

2. Иммунодефицитные состояния и их коррекция у крупного рогатого скота в условиях экологического неблагополучия: специальность 16.00.02: диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук / Топурия Гоча Мирианович. – Оренбург, 2003. – 403 с.

3. Эпизоотическая ситуация в Российской Федерации 2022 год https://fsvps.gov.ru/sites/default/files/files/iac/iac_epizooticheskaya_situaciya_v_rf_2022_god.pdf (дата обращения 17.07.2023).

4. Патент № 2691586 C1 Российская Федерация, МПК C12N 1/00. Способ получе-

ния антигена из "Mycobacterium bovis Bovinus-8 штамм 700201" молекулярной массой 28 кДа для изучения гуморального иммунного ответа: № 2018127036: заявл. 23.07.2018: опубл. 14.06.2019 / К. С. Хаертынов, А. П. Цибулькин, Э. А. Шуралев [и др.]; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования "Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России).

5. Оптимизация схем гипериммунизации лабораторных животных высокоочищенным антигеном вируса бешенства / А. Г. Мухамеджанова, Р. М. Ахмадеев, Н. Р. Мифтахов [и др.] // Ветеринария. – 2020. – № 10. – С. 25-29. – DOI 10.30896/0042-4846.2020.23.10.25-29.

6. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold / J. Turkevich, P.C. Stevenson, J. Hillier // Discussions of the Faraday Society. – 1951. Vol. 11. – P. 55-75. DOI: 10.1039/DF9511100055.

7. Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Monodisperse Gold Suspensions / G. Frens // Nature Physical Science. – 1973. – Vol. 241, No. 105. P. – 20–22. DOI:10.1038/physci241020a0.

8. Определение специфических антител методом иммунохроматографии (количественные закономерности и практические приложения): специальность 03.01.04 "Биохимия": автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата химических наук / Сотников Дмитрий Васильевич. – Москва, 2016. – 22 с.

9. Иммунохроматографический анализ. Материал из Википедии. https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%98%D0%BC%D0%BC%D1%83%D0%BD%D0%BE%D1%85%D1%80%D0%BE%D0%BC%D0%B0%D1%82%D0%BE%D0%B3%D1%80%D0%B0%D1%84%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9_%D0%B0%D0%BD%D0%B0%D0%BB%D0%B8%D0%B7 (дата обращения 20.07.2023).

10. Функционирование и серологическая активность экстракта клеток и продуктов экспрессии Mycobacterium bovis / Э. А. Шуралев, К. С. Хаертынов, А. Р. Валеева [и др.] // Ветеринария и кормление. – 2017. – № 3. – С. 103-105. – EDN YULKEF.

11. Extraction and Serological Properties of Mycobacterium Cell Surface and Excreted Proteins / K. S. Khaertynov, A. R. Valeeva, M. N. Mukminov [et al.] // BioNanoScience. – 2018. – Vol. 8, No. 1. – P. 459-466. – DOI 10.1007/s12668-017-0492-1. – EDN XYADBJ.

REFERENCES

1. Shuralev EA. Ocenka immunohromatograficheskogo testa na osnove mul'tiantigenov Mycobacterium bovis: Uchenye zapiski Kazanskoj gosudarstvennoj akademii veterinarnoj medicinyim. N.E. Baumana. 2017; 230(2): 190-193 [in Russ.].

2. Topuriya GM. Immunodeficitnye sostoyaniya I ih korrekciya u krupnogo rogatogo skota v usloviyah ekologicheskogo neblagopoluchiya: special'nost' 16.00.02: dissertaciya na soiskanie uchenoj stepeni doktora biologicheskih nauk. – Orenburg. 2003: 403 [in Russ.].

3. Epizooticheskaya situaciya v Rossijskoj Federacii 2022 god https://fsvps.gov.ru/sites/default/files/files/iac/iac_epizooticheskaya_situaciya_v_rf_2022_god.pdf (data obrashcheniya17.07.2023) [in Russ.].

4. Khaertynov KS, Cibul'kin AP, Shuralev EA, Efimova MA, Valeeva AR, Mukminov MN, Ahmadeev RM, Khaertynova IM, Valiev RSH, Gabdulhakova AG, Moskvicheva AV. Patent № 2691586 C1 Rossijskaya Federaciya, MPK C12N 1/00. Sposob polucheniya antigena iz "Mycobacterium bovis Bovinus-8 shtamm 700201" molekulyarnoj massoj 28 kDa dlya izucheniya gumoral'nogo immunnogo otveta: № 2018127036: zayavl. 23.07.2018: opubl. 14.06.2019; zayavitel' Federal'noe gosudarstvennoe byudzhetnoe obrazovatel'noe uchrezhdenie dopolnitel'nogo professional'nogo obra-

zovaniya "Rossijskaya medicinskaya akademiya nepreryvnogo professional'nogo obrazovaniya" Ministerstva zdravoohraneniya Rossijskoj Federacii (FGBOU DPO RMANPO Minzdrava Rossii) [in Russ.].
5. Muhamedzhanova AG, Ahmadeev RM, Miftahov NR, Nasyrov ShM, Aleeva ZZ, Yarullina GM, Arutyunyan GS. Optimizaciya skhem giperimmunizacii laboratornyh zhivotnyh vysokoochishchennym antigenom virusa beshenstva: Veterinariya. 2020; 10: 25-29. – DOI 10.30896/0042-4846.2020.23.10.25-29 [in Russ.].
6. Turkevich, J., Stevenson, P.C., Hillier, J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold: Discussions of the Faraday Society. 1951; 11: 55-75. DOI: 10.1039/DF9511100055.
7. FRENS, G. Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Monodisperse Gold Suspensions: Nature Physical Science. 1973; 241(105): 20–22. DOI:10.1038/physci241020a0.
8. Sotnikov DV. Opredelenie specificheskih antitel metodom immunohromatografii (kolichestvennye zakonomernosti I prakticheskie prilozheniya): special'nost' 03.01.04: dissertaciya na soiskanie uchenoj stepeni kandidata himicheskih nauk. – Moskva. 2016: 150 [in Russ.].
9. Immunohromatograficheskij analiz. Material iz Vikipedii. https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%98%D0%BC%D0%BC%D1%83%D0%BD%D0%BE%D1%85%D1%80%D0%BE%D0%BC%D0%B0%D1%82%D0%BE%D0%B3%D1%80%D0%B0%D1%84%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9_%D0%B0%D0%BD%D0%B0%D0%BB%D0%B8%D0%B7 (data obrashcheniya 20.07.2023).
10. Shuralev EA, Khaertynov KS, Valeeva AR, Aleksandrova NM, Mukminov MN. Funkcionirovanie i serologicheskaya aktivnost' ekstrakta kletok i produktov ekspressii Mycobacterium bovis: Veterinariya i kormlenie. 2017; 3: 103-105 [in Russ.].
11. Khaertynov KS, Valeeva AR, Mukminov MN, Khaertynova IM, Nabatov AA, Shuralev EA, Ivanov AV, Aleksandrova NM, Moskvicheva AV, Efimova MA, Akhmadeev RM, Samigullina ES, Urazov NG. Extraction and Serological Properties of Mycobacterium Cell Surface and Excreted Proteins: BioNanoScience. 2018; 8(1): 459-466. – DOI 10.1007/s12668-017-0492-1.

УДК: 619: [612.017:615.371]:636.4
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.21

ФОРМИРОВАНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ИММУНИТЕТА У ПОРОСЯТ ПРИ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ЦИРКОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Шахов А.Г. – д-р ветеринар. наук, проф., член-корреспондент РАН, гл. научн. сотр. лаб. иммунологии и серологии (ORCID 0000-0002-6177-8858); **Сашнина Л.Ю.*** – д-р ветеринар. наук, зав. лаб. иммунологии и серологии (ORCID 000-0001-6477-6156); **Владимирова Ю.Ю.** – канд. ветеринар. наук, мл. научн. сотр., лаб. иммунологии и серологии (ORCID 0000-0001-8888-7264); **Акулова К.О.** – мл. научн. сотр., лаб. иммунологии и серологии (ORCID 0000-0003-0120-9370), **Никоненко Г.В.** – мл. научн. сотр., лаб. иммунологии и серологии (ORCID 0000-0003-4983-7170).

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»

*l.yu.sashnina@mail.ru

***Ключевые слова*:** поросята, цитокиновый профиль, Т- и В-лимфоциты, вакцинация против цирковирусной инфекции.

Key words: piglets, cytokine profile, T- and B-lymphocytes, vaccination against circovirus infection.

Поступила: 06.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты изучения формирования специфического иммунитета у поросят при вакцинации против цирковирусной инфекции. Цирковирусные болезни свиней, проявляющиеся поражением многих систем организма, широко распространены и наносят большой экономический ущерб в промышленных свиноводческих хозяйствах. Изучение формирования специфического иммунитета при вакцинации поросят против цирковирусной инфекции представляет научный и практический интерес. Цель исследований – изучение формирования специфического иммунитета у поросят при вакцинации против цирковирусной инфекции. Установлено, что вакцинация сопровождается активацией системы врожденного иммунитета, инициировавшей запуск и формирование антиген-специфического адаптивного иммунного ответа. У животных через 6 дней после введения вакцины по сравнению с интактными поросятами установлено повышение содержания провоспалительных цитокинов IL-1β, TNF-α, IFN-α и IFN-γ и противовоспалительного медиатора IL-4, свидетельствующее о клеточном и гуморальном иммунном ответе. Увеличение индексов воспалительной активности медиаторов и соотношения про- и противовоспалительных цитокинов указывает на усиление активности Т-хелперов I и превалирование клеточного иммунного ответа. Под воздействием технологического стресса, обусловленного отъемом от свиноматок и переводом на доращивание, у животных через 14 дней после вакцинации отмечено снижение уровня IL-2, IFN-α и IFN-γ, индуцирующих клеточный иммунитет, а также цитокинового индекса, отношения про- и противовоспалительных медиаторов, что свидетельствует о смещении направленности иммунного ответа в сторону активации функционирования Т-хелперов II, указывающим на преимущественное формирование гуморального иммунитета.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Цирковирусные болезни свиней, проявляющиеся поражением многих систем организма, широко распространены и наносят большой экономический ущерб в промышленных свиноводческих хозяйствах [1-4]. Для их специфической профилактики предложены инактивированные и рекомбинантные субъединичные вакцины из цирковируса II типа, применение которых в значительной степени снижает заболеваемость и падёж поросят в период доращивания и откорма, вирусную нагрузку на организм, повышает устойчивость к заражению вирусом и секундарными инфекциями [2,5].

Изучение формирования специфического иммунитета при вакцинации поросят против цирковирусной инфекции представляет научный и практический интерес, при этом экспериментальных работ, касающихся цитокинового профиля при применении вакцин, позволяющего оценить изменения функционального состояния клеток иммунной системы и направленность иммунного ответа, опубликовано мало.

Более глубокое понимание механизмов действия иммунизации может быть использовано для изыскания средств, направленных на повышение иммунного статуса и снижение возможного негативного влияния вакцинации на организм животных.

Цель исследований – изучение формирования специфического иммунитета у поросят при вакцинации против цирковирусной инфекции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проведены в промышленном свиноводческом хозяйстве на 2 группах по 25 поросят. Животные первой (контрольная) группа были интактными, второй (опытная) – в возрасте 20 дней привиты против цирковирусной инфекции инактивированной вакциной «Ингельвак ЦиркоФЛЕКС» (производитель Бёрингер Ингельхайм, Германия).

Опыты проведены в соответствии с требованиями действующих международных и российских законодательных актов (Директива 2010/63/EU от 22.09.2010, Европейской конвенции (ETS 123), Strasbourg, 1986), а также требований комиссии по биоэтике ФГБНУ «ВНИВИПФиТ» (протокол №1-02/23 от 10.02.2023 г.).

Отъём поросят от свиноматок и перевод их на доращивание проведён в 28 дневном возрасте. От 5 животных каждой группы в возрасте 20, 26 и 33 дней проведен забор крови, в которой определяли содержание цитокинов: IL-1β, IL-2, IL-4, IL-10, TNF-α, IFN-γ, IFN-α методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» согласно утвержденным наставлениям к диагностическим наборам. Для оценки цитокинового баланса определяли суммарную активность эндогенных медиаторов воспаления по величине индекса воспалительной активности (ИВА), который рассчитывали по формуле ИВА = (IL-1β+ TNF-α)/ IL-4 [6] Для характеристики направленности иммунного ответа у вакцинированных поросят оценивали общее соотношение про- и противовоспалительных цитокинов (ОЦИ), определяемое по формуле ОЦИ = (IL-1β+IL-2+TNF-α+IFN-α+IFN-γ)/(IL-4+IL-10); отношение медиаторов, опосредующих реакции клеточного (ThI) и гуморального (ThII) иммунитета - ЦИ (ThI/ThII) = (IL-2+TNF-α+IFN-γ)/(IL-4+IL-10) [7] и соотношения оппозитных цитокинов IL-1β/ IL-4; IL-1β/ IL-10; IFN-γ/IL-4; IFN-γ/IL-10 [8].

Количество Т- и В-лимфоцитов, теофиллинрезистентных (Ттфр), теофиллинчувствительных (Ттфч) лимфоцитов в периферической крови проводили методом спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана в соответствии с «Методическими рекомендациями по оценке и коррекции иммунного статуса животных» с последующим расчётом иммунорегуляторного индекса – Ттфр/Ттфч [9].

Определение титров антител к возбудителю ЦВС-2 осуществляли методом

иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием спектрофотометра «Униплан-ТМ» и диагностического набора «ЦИРКО-СЕРОТЕСТ» (Россия) согласно утвержденному наставлению.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием прикладных компьютерных программ «Statistica 10.0» (Stat Soft Inc., США) и Microsoft Excel. Оценку достоверности определяли по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESUTS

У вакцинированных поросят в возрасте 26 дней по сравнению с фоном увеличилось содержание IL-1β, являющегося важнейшим медиатором воспаления, инициирующего развитие и регуляцию неспецифических и специфических механизмов иммунитета [10, 11], на 18,8% и превышало его значение у интактных животных на 46,2 % (табл.1). Количество IL-2, стимулирующего клеточный иммунитет, у них не изменилось, но было выше контрольного показателя на 3,7%.

Оценка уровня TNF-α, обладающего провоспалительным свойством и регулирующего межклеточное взаимодействие иммунокомпетентных клеток, у вакцинированных поросят характеризовалась увеличением на 7,3% и превышением на 9,3% аналогичного показателя поросят контрольной группы.

Содержание IFN-α, обладающего антивирусной активностью и стимулирующего иммунную цитотоксичность, у вакцинированных поросят увеличилось на 12,8%, превысив контрольный показатель на 12,8%.

Изменения количества IFN-γ, являющегося основным иммунорегуляторным цитокином, активирующего клеточные механизмы защиты и ингибирующего гуморальные факторы иммунного ответа, характеризовались увеличением его уровня у поросят после вакцинации на 21,2%, что было выше контроля на 32,8%.

Наряду с этим отмечена активация IL-4, определяющего развитие гуморального иммунитета, содержание которого возросло на 10,5%, и было выше на 10,5% его значения у непривитых поросят, что обусловлено компенсаторной реакцией, направленной на ингибирование синтеза провоспалительных цитокинов и прежде всего медиатора IL-1β. Вместе с тем вакцинация не стимулировала продукцию IL -10, являющегося антагонистом провоспалительных цитокинов и индуцирующего гуморальный иммунитет.

Полученные результаты свидетельствуют о клеточном и гуморальном ответе поросят на введение вакцины.

При определении направленности иммунного ответа (табл.2) у вакциниро-

Таблица 1 – Цитокиновый профиль у поросят

Показатели, пг/мл	Поросята, возраст				
	20 дней (фон)	26 дней		33 дня	
		интактные	6 дней после вакцинации	интактные	14 дней после вакцинации
IL-1β	4,8±0,19	3,9±0,08^{+}	5,7±0,29^{*+}	4,3±0,10^{+}	5,6±0,15*
IL-2	2,8±0,11	2,7±0,13	2,8±0,09	2,5±0,07	2,7±0,04*
TNF-α	5,5±0,16	5,4±0,08	5,9±0,05^{*+}	5,6±0,09	5,8±0,07*
IFN-α	18,0±0,72	18,0 ±0,89	20,3±0,82^{+}	18,0±0,65	19,6±1,36
IFN-γ	119,2±5,6	108,8±2,47	144,5±5,14^{*+}	121,5±3,24	131,3±1,57^{*+}
IL-4	1,9±0,12	1,9±0,10	2,1±0,16	1,8±0,05	2,1±0,25
IL-10	3,4±0,17	3,2±0,15	3,3±0,16	3,3±0,17	3,4±0,33

Примечание: *- p<0,05-0,001 - по отношению к поросятам под здоровыми свиноматками; $^{+}$- p<0,05-0,001 - по отношению к предыдущему периоду.

ванных животных установлено повышение суммарной активности эндогенных медиаторов воспаления, характеризующееся увеличением индекса воспалительной активности на 7,5% и цитокинового индекса (ThI/ThII) на 11,7%, превышающих на 18,8 и 25,9% аналогичные показатели у интактных поросят, что указывает на повышение активности Т-хелперов I и развитие клеточного иммунитета. Об этом же свидетельствует и увеличение у иммунизированных поросят общего соотношения про- и противовоспалительных цитокинов на 8,9% и медиаторов IL-1/IL-10 на 21,4%, IL-1/IL-4 на 16,7%, IFN-γ/IL-10 на 14,4%, IFN-γ/IL-4 на 6,8%, превышающих таковые у интактных животных на 14,2%; 41,7; 40,0; 28,1 и 25,4% соответственно.

Таблица 2 – Показатели, характеризующие направленность иммунного ответа

Показатели	Поросята, возраст				
	20 дней (фон)	26 дней		33 дня	
		интактные	6 дней после вакцинации	интактные	14 дней после вакцинации
ИВА	5,3±0,21	4,8±0,28	5,7±0,37*	5,4±0,19	5,7±0,60
ОЦИ	45,0±1,69	42,9±1,47	49,0±2,44*	47,0±2,39	45,6±2,95
ЦИ Th1/Th2	25,7±1,48	22,8±1,00	28,7±1,56*	26,9±1,91^{+}	25,9±1,81
IL1/IL10	1,4±0,09	1,2±0,07	1,7±0,02^{*+}	1,3±0,07	1,7±0,15*
IL1/IL4	2,4±0,12	2,0±0,11^{+}	2,8±0,013^{*+}	2,4±0,08^{+}	2,8±0,29
IFN-y/IL10	38,3±3,02	34,2±0,46	43,8±2,69*	39,7±3,12	39,3±2,85
IFN-y/IL4	66,6±3,05	56,7±4,66	71,1±4,29*	70,3±5,32^{+}	66,0±4,98

Примечание: *P<0,05-P<0,001 - по отношению к непривитым поросятам ; $^{+}$P<0,05-P<0,001 по отношению к предыдущему периоду

Таблица 3 – Специфический клеточный иммунитет у поросят

Показатель	Поросята/возраст				
	20 дней фон	26 дней		33 дня	
		интактные	6 дней после вакцинации	интакт-ные	14 дней после вакцинации
Лейкоциты, 10^9/л	12,0±0,71	15,7±1,46^{+}	14,2±1,58	17,0±1,26	17,8±1,26
Лимфоциты, %	56,6±0,84	56,3±1,32^{+}	58,2±1,24	54,6±1,39	51,6±2,18^{+}
Лимфоциты, 10^9/л	6,5±0,44	8,4±0,73^{+}	7,9±0,74	9,3±0,66	9,13±0,44
Т-лимфоциты, %	53,6±2,77	50,0±2,92	56,2±1,11*	47,6±1,00	52,2±1,23^{+*}
Т-лимфоциты,10^9/л	3,7±0,31	4,4±0,57	4,7±0,57	4,4±0,51	4,5±0,13
Ттфр, %	33,0±2,26	33,0±1,38	33,6±1,81	29,6±1,67	30,2±0,75
Ттфр, 10^9/л	1,13±0,08	1,4±0,21	1,51±0,23	1,35±0,17	1,34±0,06
Ттфч, %	20,6±1,41	17,0±1,54	22,6±0,87*	18,0±1,39	18,6±1,24^{+}
Ттфч, 109/л	0,80±0,13	0,83±0,22	1,06±0,13	0,76±0,07	0,89±0,09
Ттфр/Ттфч	1,66±0,15	2,06±0,24	1,50±0,16	1,79±0,23	1,67±0,09
В-лимфоциты, %	27,0±2,23	27,6±1,70	30,4±1,65^{+}	26,8±1,24	30,4±1,17*
В-лимф, 10^9/л	1,77±0,21	2,33±0,29	2,44±0,38^{+}	2,54±0,26	2,76±0,18

Примечание: *P<0,05-P<0,001 - по отношению к непривитым поросятам ; $^{+}$P<0,05-P<0,001 по отношению к предыдущему периоду

У поросят опытной группы после вакцинации установлено повышение содержания лейкоцитов и лимфоцитов на 18,3 и 21,5% соответственно, но по отношению к значениям интактных поросят оно было ниже на 9,3 и 6,0%.

Исследование показателей клеточного иммунитета у вакцинированных животных показало увеличение относительного и абсолютного содержания Т-лимфоцитов на 4,9% и 30,9% (табл. 3), которые превышали контрольные значения на 12,4 и 5,0% соответственно, что свидетельствует о клеточном иммунном ответе на вакцинный антиген цирковируса.

Абсолютное содержание теофиллинрезистентных Т-лимфоцитов (Т-хелперов), играющих важную роль в защите от вирусов, продуцируя IFN-у и IL-2 [12] у вакцинированных поросят возросло на 33,6%, и было выше 7,9% контроля.

Вакцинация одновременно стимулировала образование Т-лимфоцитов с супрессорной активностью. При увеличении у вакцинированных поросят относительного и абсолютного количества теофиллинчувствительных Т-лимфоцитов (Т -супрессоров) на 9,7 и 40,8% их значения были выше контрольных показателей на 32,9 и 29,9%, что свидетельствует об усилении у них супрессивной активности Т-лимфоцитов, обусловленной воздействием биопрепарата и циркулирующих в среде обитания животных микроорганизмов.

Повышение содержания теофиллинчувствительных Т-лимфоцитов у вакцинированных поросят сказалось на иммунорегуляторном индексе, значение которого снизилось на 90,6%, и было меньше, чем в контроле на 27,2%, что указывает на повышение супрессивной активности Т-лимфоцитов, по-видимому, связанное с необходимостью сдерживания развития иммунных реакций.

В то же время у животных после вакцинации отмечено увеличение относительного и абсолютного содержания В-лимфоцитов на 12,6 и 37,9% которое превышало контрольные показатели на 10,1 и 4,7%, свидетельствующее о гуморальном иммунном ответе на вакцинный антиген цирковируса II типа.

Технологический стресс, обусловленный отъёмом поросят от свиноматок и переводом на доращивание (28 дней) оказал существенное влияние на цитокиновый профиль животных обеих групп. Спустя 5 дней после его воздействия у интактных поросят в возрасте 33 дней повысилось содержание IL-1β на 10,3%, а у вакцинированных – незначительно снизилось, но при этом оно было выше на 30,2%.

Аналогичные изменения отмечены в концентрации IFN-γ, которая у интактных животных увеличилась на 11,7%, а у вакцинированных поросят уменьшилась на 9,1%**,** при этом ее значение у животных опытной группы было выше на 8,1%.

Несмотря на незначительные изменения содержания TNF-α и IFN-α у животных обеих групп, их значения у вакцинированных поросят превышали таковые у интактных на 3,6% и 8,9%.

При общей тенденции снижения уровня IL-2 у животных обеих групп на 7,4 и 3,6%, его значение у привитых поросят превышало контрольный показатель на 8,0%.

Наряду с этим содержание IL-4 снизилось на 5,3% у интактных животных, а у вакцинированных поросят не изменилось, и на 16,7% было выше контроля.

Уровень противовоспалительного медиатора IL-10 у поросят обеих групп имело тенденцию к повышению, обусловленную компенсаторной реакцией, направленной на ингибирование синтеза провоспалительных цитокинов.

При анализе цитокинового баланса у интактных поросят в этот период установлено повышение индекса воспалительной активности, общего цитокинового индекса и индекса соотношений ThI/ ThII на 12,5; 9,6 и 18,0% соответственно, так же, как и соотношений отдельных цитокинов: IL-1/IL-10 на 8,3%, IL-1/IL-4 на 20,0%, IFN-γ/IL-10 на 16,1% и IFN-γ/IL -4 на 24,0%.

При этом у вакцинированных поросят величина индекса воспалительной активности и соотношений IL-1/IL-4 и IL-1/IL-

10 оставалась на том же уровне и была выше на 5,6 и 30,8 и 16,7% соответственно аналогичных показателей интактных животных. В то же время общий цитокиновый индекс, индекс соотношений ThI/ ThII и отношений IFN-γ/IL-10 и IFN-γ/IL-4 снизились на 6,9; 9,8 и 10,3 и 7,2% соответственно и были незначительно ниже (2,9-6,1%) значений поросят контрольной группы. Выявленные изменения указывают на усиление активности Т-хелперов II типа, свидетельствующее о превалировании гуморального иммунного ответа, что согласуется с повышением активности теофиллинчувствительных Т-лимфоцитов на 17,1% и снижением индекса Ттфр/ Ттфч на 6,7% (табл. 3).

Под воздействием технологического стресса у поросят обеих групп установлено повышение содержания лейкоцитов на 8,3 и 25,4% и лимфоцитов на 10,7 и 15,6%, при снижении относительного количества лимфоцитов на 9,7 и 11,3% соответственно, вместе с тем значимых различий этих показателей между группами не отмечено.

В этот период у поросят контрольной и опытной групп выявлено уменьшение относительного содержания Т-лимфоцитов на 4,8 и 7,1%, которое у вакцинированных было выше на 9,7%.

При снижении у животных обеих групп относительного и абсолютного количества теофиллинрезистентных Т-лимфоцитов на 10,3 и 3,6% и 10,1 и 11,3% существенных различий между показателями вакцинированных и интактных поросят не обнаружено.

Относительное содержание теофиллинчувствительных Т-лимфоцитов у поросят контрольной группы повышалось на 5,9%, а у животных опытной группы снижалось на 17,7%, однако было незначительно выше (3,3%). Абсолютное количество теофиллинчувствительных Т-лимфоцитов у поросят обеих групп уменьшилось на 8,4 и 16,0%, при этом у вакцинированных поросят оно было выше на 17,1% по сравнению с интактными.

У интактных поросят отмечено снижение иммунорегуляторного индекса на 13,1%, а у вакцинированных животных увеличение его значения на 11,3%, при этом оно было меньше на 6,7% показателя поросят контрольной группы.

Выявленные изменения свидетельствуют о более высокой супрессивной активности Т-лимфоцитов после вакцинации, связанной, по-видимому, с необходимостью сдерживания развития иммунных реакций, вызванных вакцинным антигеном цирковируса II и микроорганизмами, циркулирующими в окружающей среде.

У поросят обеих групп установлено повышение абсолютного содержания В-клеток на 9,0 и 13,1% при этом у вакцинированных животных оно было выше на 8,7%, как и относительное их количество на 13,4%, что связано с гуморальным иммунным ответом. Это согласуется с результатами определения титров специфических антител к антигену цирковируса II типа (табл. 4).

Таблица 4 – Титры антител к ЦВС-2

Показатель	Поросята/возраст				
	20 дней фон	26 дней		33 дня	
		интактные	6 дней после вакцинации	интактные	14 дней после вакцинации
Титры антител, %	117,6±2,26	$16,3\pm1,09^{+}$	$13,7\pm0,65^{*+}$	$6,6\pm1,09^{+}$	$25,6\pm1,08^{+*}$

Примечание: диагностический титр >20%

*-p<0,05-0,001 - по отношению к поросятам под здоровыми свиноматками;

$^{+}$- p<0,05-0,001 - по отношению к предыдущему периоду.

При фоновом исследовании сывороток крови у поросят обеих групп выявлены специфические антитела к антигену цирковируса II типа колострального происхождения, титр которых снизился в 26-ти дневном возрасте в 7,2 и 8,6 раза, при этом у вакцинированных животных он был меньше на 16,2%, что обусловлено расходом антител на связывание антигена.

У поросят через 14 дней после вакцинации повысился титр антител на 87,2% и превышал контрольный показатель в 3,9 раза, что свидетельствует о формировании гуморального иммунитета, в то время как у интактных поросят в этот период титр антител снизился на 59,7%.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведёнными исследованиями установлено, что вакцинация поросят против цирковирусной инфекции сопровождается увеличением содержания провоспалительных цитокинов IL-1, TNF-α, IFN-α и IFN-γ и противовоспалительных медиаторов IL-4, свидетельствующим о клеточном и гуморальном иммунном ответе. Установленное у них повышение индекса воспалительной активности медиаторов, цитокинового индекса (ThI/ThII), соотношения про- и противовоспалительных цитокинов и IL-1/IL-10, IL-1/IL-4, IFN-γ/IL-10 и IFN-γ/IL-4 указывает на увеличение активности Т-хелперов I и превалирование клеточного иммунного ответа.

Под воздействием технологического стресса у интактных поросят отмечено снижение уровня IL-2 и IL-4 при незначительном увеличении TNF-α, IFN-α и IL-10 и более существенном повышении IL-1β и IFN-γ, а у вакцинированных животных на фоне стресс-реакции, связанной с введением антигена, уменьшение количества IL-2, IFN-α и IFN-γ, индуцирующих клеточный иммунитет, а также цитокинового индекса (ThI/ThII), отношения про- и противовоспалительных медиаторов, что указывает на смещение в сторону повышения активности функционирования Т-хелперов II, свидетельствующее о преобладании гуморального иммунного ответа.

FORMATION OF SPECIFIC IMMUNITY IN PIGS WHEN VACCINATING THEM AGAINST CIRCOVIRUS INFECTION

Shakhov A.G. – Doc. of Vet. Sciences, Professor, Corresponding Member of the RAS, Chief Scientific Associate of the Laboratory of Immunology and Serology (ORCID 0000-0002-6177-8858), **Sashnina L.Yu.** * – Doc. of Vet. Sciences, Head of the Laboratory of Immunology and Serology (ORCID 000-0001-6477-6156), **Vladimirova Yu.Yu.** – Cand. of Vet. Sciences, Junior Scientific Associate of the Laboratory of Immunology and Serology (ORCID 0000-0001-8888-7264), **Akulova K.O.** – Junior Scientific Associate of the Laboratory of Immunology and Serology (ORCID 0000-0003-0120-9370), **Nikonenko G.V.** – Junior Scientific Associate of the Laboratory of Immunology and Serology (ORCID 0000-0003-4983-7170).

FSBSI «All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy»

* l.yu.sashnina@mail.ru

ABSTRACT

The article presents the results of studying the formation of specific immunity in piglets during vaccination against circovirus infection. Circovirus diseases of pigs, manifested by the defeat of many body systems, are widespread and cause great economic damage in industrial pig farms. The study of the formation of specific immunity during vaccination of piglets against circovirus infection is of scientific and practical interest. The purpose of the research is to study the formation of specific immunity in piglets during vaccination against circovirus infection. It was found that vaccination is accompanied by activation of the innate immunity system, which initiated the launch and formation of an antigen-specific adaptive immune response. In animals 6 days after the introduction of the vaccine, compared with intact piglets, an increase in the content of pro-inflammatory cytokines IL-1ß, TNF-α, IFN-α and IFN-γ and the anti-inflammatory mediator IL-4 was found, indicating a cellu-

lar and humoral immune response. An increase in the indices of inflammatory activity of mediators and the ratio of pro- and anti-inflammatory cytokines indicates an increase in the activity of T-helper I and the prevalence of cellular immune response. Under the influence of technological stress caused by weaning from sows and transfer to rearing, animals 14 days after vaccination showed a decrease in the level of IL-2, IFN-α and IFN-γ, inducing cellular immunity, as well as cytokine index, the ratio of pro- and anti-inflammatory mediators, which indicates a shift in the direction of the immune response in the side of activation of the functioning of T-helper II, indicating the predominant formation of humoral immunity.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Орлянкин, Б.Г. Инфекционные респираторные болезни свиней: этиология, диагностика и профилактика/ Орлянкин Б.Г., Алипер Т.И., Мишин А.М.// Свиноводство. 2010. – № 3. – С. 67-69.
2. Раев, С.А. Специфическая профилактика цирковирусных болезней свиней: современное состояние и перспективы / С.А. Раев // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. – 2014. – № 1. – С. 26-29.
3. Донник, И. М. Патогенез болезни и воздействие ЦВС-2 на иммунную систему организма свиней / И. М. Донник, О. Г. Петрова, А. Г. Исаева // Аграрный вестник Урала. – 2013. – №. 4 (110). – С. 11-13.
4. Попова, В.М. Обзор по цирковирусной инфекции свиней / В.М. Попова, О.А. Богомолова, Е.В. Маркова, Ю.Н. Фёдоров, Л.С. Люлькова // Свиноводство. – 2020. – № 3. – С. 8-10.
5. Орлянкин, Б. Г. Цирковирусные болезни свиней: распространение, диагностика и специфическая профилактика // Ветеринария. – 2013. – №. 8. – С. 3-10.
6. Карпунина, Т. И. Методические подходы к оценке цитокинового баланса и лейкоцитарной реакции при обтурации желчевыводящих путей различного генеза / Т. И. Карпунина, А. П. Годовалов, Ю. Б. Бусырев // Медицинская иммунология. – 2018. – Т. 20. – №. 6. – С. 825-832.
7. Шахов, А. Г. Цитокиновый профиль у больных актинобациллезной плевропневмонией поросят и его коррекция ципропигом / А.Г. Шахов, Л.Ю. Сашнина, Ю.Ю. Владимирова, М.И. Адодина // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – №. 3. – С. 60-65
8. Кожахметова, Д. К., Цитокиновый профиль как критерий эффективности терапии больных хроническим декомпенсированным бруцеллезом / Д. К. Кожахметова, С. Б. Маукаева, А. Г. Куанышева, Н. К. Кудайбергенова, К. Н. Тусупова, Г. И. Нуралинова // Современная медицина: актуальные вопросы. – 2014. – №. 30. – С. 62-69.
9. Шахов, А.Г. Методические рекомендации по оценке и коррекции иммунного статуса животных / А. Г. Шахов, Ю. Н. Масьянов, М. И. Рецкий [и др.] - Воронеж. – 2005. – 115 с.
10. Стагниева, И.В. Цитокины в диагностике воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей (обзор литературы) / И.В. Стагниева, Н.В. Бойко, Е.Л. Гукасян, А.С. Бачурина // Российская ринология. 2017. – Т. 25. – №4. – С. 43-47.
11. Cohrs, G. Expression profiles of pro-IFNlammatory and pro-apoptotic mediators in secondary tethered cord syndrome after myelomeningocele repair surgery / G. Cohrs, B. Drucks, J.P. Sürie et al. // Child's Nervous System. – 2019. – Т. 35. – Vol. 2. – P. 315-328.
12. Орлянкин, Б. Г. Противовирусный иммунитет и стратегия специфической профилактики вирусных болезней свиней / Б. Г. Орлянкин // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. – 2008. – Т. 6. – С. 128-145.

REFERENCES

1. Orlyankin, B.G. Infectious respiratory diseases of pigs: etiology, diagnosis and prevention / Orlyankin B.G., Aliper T.I., Mishin A.M.// Pig breeding. 2010. No. 3. P. 67-69. [in Russ.]
2. Raev, S.A. Specific prevention of pig circovirus diseases: current state and pro-

spects / S.A. Raev // Russian Veterinary Journal. Farm animals. - 2014. - No. 1. - P. 26-29. [in Russ.]

3. Donnik, I. M. Pathogenesis of the disease and the effect of PCV-2 on the immune system of pigs / I. M. Donnik, O. G. Petrova, A. G. Isaeva // Agrarian Bulletin of the Urals. – 2013. – No. 4 (110). – pp. 11-13. [in Russ.]

4. Popova, V.M. Review of pig circovirus infection / V.M. Popova, O.A. Bogomolova, E.V. Markova, Yu.N. Fedorov, L.S. Lyulkova // Pig breeding. - 2020. - No. 3. - P. 8-10. [in Russ.]

5. Orlyankin, B. G. Circovirus diseases of pigs: distribution, diagnosis and specific prevention // Veterinary Medicine. – 2013. – No. 8. – P. 3-10. [in Russ.]

6. Karpunina, T. I. Methodical approaches to assessing the cytokine balance and leukocyte reaction during obstruction of the biliary tract of various origins / T. I. Karpunina, A. P. Godovalov, Yu. B. Busyrev // Medical immunology. – 2018. – V. 20. – No. 6. – P. 825-832. [in Russ.]

7. Shakhov, A.G. Cytokine profile in piglets with actinobacillus pleuropneumonia and its correction with tsipropig / A.G. Shakhov, L.Yu. Sashnina, Yu.Yu. Vladimirova, M.I. Adodina // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2021. – No. 3. – P. 60-65. [in Russ.]

8. Kozhakhmetova, D. K., Cytokine profile as a criterion for the effectiveness of therapy for patients with chronic decompensated brucellosis / D. K. Kozhakhmetova, S. B. Maukaeva, A. G. Kuanysheva, N. K. Kudaybergenova, K. N. Tusupova, G. I. Nuralinova // Modern medicine: current issues. – 2014. – No. 30. – pp. 62-69. [in Russ.]

9. Shakhov, A.G. Methodical recommendations for assessing and correcting the immune status of animals / A. G. Shakhov, Yu. N. Masyanov, M. I. Retskiy [et al.] - Voronezh. - 2005 - 115 p. [in Russ.]

10. Stagnieva, I.V. Cytokines in the diagnosis of inflammatory diseases of the upper respiratory tract (literature review) / I.V. Stagnieva, N.V. Boyko, E.L. Ghukasyan, A.S. Bachurina // Russian rhinology. 2017. - V. 25. - No. 4. - P. 43-47. [in Russ.]

11. Cohrs, G. Expression profiles of pro-IFNlammatory and pro-apoptotic mediators in secondary tethered cord syndrome after myelomeningocele repair surgery / G. Cohrs, B. Drucks, J.P. Sürie et al. // Child's Nervous System. – 2019. – V. 35. – Vol. 2. – P. 315-328.

12. Orlyankin, B. G. Antiviral immunity and strategy for specific prevention of viral diseases of pigs / B. G. Orlyankin // Proceedings of the Federal Center for Animal Health. - 2008. - V. 6. - P. 128-145. [in Russ.]

УДК: 636.5.034:615.371
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.30

ХАРАКТЕР ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ИММУНИТЕТА ПТИЦ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ GALLID ALPHAHERPESVIRUS 2 И MELEAGRID ALPHAHERPESVIRUS 1

Тарлавин Н.В. * – канд. ветеринар. наук, асс. кафедры эпизоотологии им. В.П. Урбана; **Веретенников В.В.** – канд. ветеринар. наук, асс. кафедры эпизоотологии им. В.П. Урбана; **Джавадов Э.Д.** – д-р ветеринар. наук, проф. кафедры эпизоотологии им. В.П. Урбана; **Красков Д.А.** – асп. кафедры эпизоотологии им. В.П. Урбана; **Сидоренко К.В.** – канд. ветеринар. наук, асс. кафедры биологии, экологии и гистологии; **Махнин И.А.** – асс. кафедры биохимии физиологии.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

Ключевые слова: *птицеводство, эпизоотология, экспрессия генов, заражение, болезнь Марека.*

Key words: *poultry farming, epizootology, gene expression, infection, Marek's disease.*

*tarlav1995@bk.ru

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-26 -20084, https://rscf.ru/project/22-26-20084/

Поступила: 05.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ:
Болезнь Марека (MDV) – опасная иммунодепрессивная вирусная болезнь сельскохозяйственной птицы. Большинство яичных птицефабрик Российской Федерации вакцинирует своих цыплят в первые сутки жизни от этой вирусной болезни. Благодаря данной тактике вакцинопрофилактики, птицеводческие хозяйства оберегают себя от вспышки данной болезни и экономических ущербов. Традиционно среди вирусов, относящихся к данной болезни, выделяют 1-й серотип вируса болезни Марека (Gallid alphaherpesvirus 2) и 3-й серотип вируса болезни Марека, не являющийся таковым в строгом таксономическом смысле (Meleagrid alphaherpesvirus 1, также называемый герпесвирусом индеек). При инфицировании птицы данный вирус вызывает существенное изменение экспрессии основных генов иммунитета (*IL6, PTGS2, IRF7)*. Исходя из полученных результатов, был сделан вывод, что экспрессия генов *IL6* и *PTGS2* незначительно превышали уровень экспрессии данных генов в группе контроля. Возможно, имело место подавление местного иммунитета иммунодепрессивными свойствами вируса болезни Марека. При исследовании экспрессии гена *IRF7* было обнаружено значительное воздействие вирусов обоих серотипов на данный ген, причем Gallid alphaherpesvirus 2 превышал уровень данного воздействия по сравнению с эффектом от Meleagrid al-

phaherpesvirus 1 в 4 раза. Данные результаты могут свидетельствовать о том, что резко возрастающая экспрессия гена *IRF7* может быть признаком репликации вируса болезни Марека (так как Gallid alphaherpesvirus 2 и Meleagrid alphaherpesvirus 1 взаимодействуют с одним и тем же клеточным рецептором, на этом основан вакцинный эффект Meleagrid alphaherpesvirus 1). С другой стороны, можно сделать вывод, что введение данных вирусов не вызывает воспалительных и иммунных реакций в илеоцекальных миндалинах птицы.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

На сегодняшний день большинство птицефабрик яичного направления в Российской Федерации проводит вакцинацию против болезни Марека. Это связано, в первую очередь, с иммуносупрессивными явлениями, возникающими при субклиническом и клиническом проявлениях болезни Марека. Несмотря на это, некоторые бройлерные птицефабрики отказываются от проведения специфической профилактики против болезни Марека, считая, что длительный срок инкубации вируса делает невозможным его патогенное проявление. При проведении данного исследования мы получили подтверждения тому, что при попадании вируса в организм птицы, в кратчайшие сроки происходит его репликация и начинается поражение иммунокомпетентных клеток.

Возбудителем болезни является двухцепочечный ДНК-содержащий вирус из семейства Orthoherpesviridae рода Mardivirus. Традиционно вирусы болезни Марека подразделяются на 3 серотипа: 1-й серотип (Gallid alphaherpesvirus 2), вызывающий непосредственно болезнь Марека; 2-й серотип (Gallid alphaherpesvirus 3), являющийся неонкогенным вакцинным вирусом и антигенно- и рецепторно-близкий первым двум серотипам 3-й “серотип” – герпесвирус индеек (HVT, Meleagrid alphaherpesvirus 1) [8].

Экспрессия генов иммунитета – важный показатель активности иммунных реакций, протекающих в организме. Экспрессия генов определяется путем определения в ПЦР мРНК. При данной методике исследования, уровень экспрессии конкретного гена определяется путем сравнения с экспрессией данного гена в группе контроля.

Целью данной работы являлось изучение экспрессии основных генов неспецифического иммунного ответа *IL6*, *PTGS2*, и *IRF7*, возникающей в ответ на введение в организм кур-несушек вируса болезни Марека 1-го (Gallid alphaherpesvirus 2) и 3-го (Meleagrid alphaherpesvirus 1) серотипов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Все исследования (выделение нуклеиновых кислот, амплификация) были осуществлены на базе Научно-консультационного диагностического центра по птицеводству кафедры эпизоотологии им. В.П. Урбана ФГБОУ ВО СПбГУВМ. Объектом для исследования служил цыплята породы Доминант 14-дневного возраста, материалом для исследования - образцы тканей илеоцекальных миндалин кишечника цыплят. Содержание и вакцинация птиц проводились на базе виварием ФГБОУ ВО СПбГУВМ. Содержание птицы клеточное. Для проведения исследования цыплятам была осуществлена инъекция вирусов Gallid alphaherpesvirus 2 и Meleagrid alphaherpesvirus 1 в первые сутки жизни. В качестве образца 1-го серотипа вируса болезни Марека был взят вирус штамма “3004”, полученный от ФГБУ «ВНИИЗЖ», а в качестве образца 3-его серотипа вируса болезни Марека был взят вирус штамма “FC-126” в вакцине "МАРЕК-3", также производства ФГБУ «ВНИИЗЖ». Контрольной группой выступали интактные цыплята. Образцы тканей илеоцекальных миндалин кишечника были получены на 14 сутки жизни цыплят. Цыплята были забиты с соблюдением требований международных соглашений «Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза» о защите животных, ис-

пользуемых в научных целях.

Методика проведения исследований (выделение мРНК, порядок амплификации и температурный режим, нуклеотидная последовательность амплифицируемых праймеров), изложена нами в ранее опубликованных работах по данной тематике [9, 10]. Реакцию амплификации с генными праймерами проводили с использованием набора Готовая смесь для ПЦР 5X qPCRmix-HS (Евроген) в соответствии с протоколом производителя. Расчет относительной экспрессии был произведен при помощи метода -ΔΔCt. В качестве референсного гена был выбран ген белка b-Actin.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты, полученные в данном исследовании, позволили отметить ряд особенностей экспрессии генов неспецифического иммунитета, возникающих при инфицировании организма вирусом болезни Марека (рисунки №1, №2).

Из рисунка №1 видно, что экспрессия гена IL6, в группе цыплят, инфицированных 1-м серотипом вируса болезни Марека (Gallid alphaherpesvirus 2), в 6,5 раз превышает уровень контроля. Напротив, в группе, инфицированной вакцинным 3-м серотипом вируса (Meleagrid alphaherpesvirus 1), увеличение экспрессии данного гена практически не наблюдалось. Данное явление связано с тем, что штамм “3004” более антигенно родственен полевым штаммам вируса болезни Марека, по сравнению с 3-м серотип. Так, Heidari с соавторами отмечает, что илеоцекальные миндалины кишечника птиц считаются крупнейшими агрегатами лимфоидной ткани, ассоциированной с кишечником птицы, и, соответственно, становятся мишенями для вируса болезни Марека 1-го серотипа [2]. Стоит иметь ввиду, что ген IL6 включается в работу при воспалительных процессах в организме птицы, что может свидетельствовать об отсутствии данных процессов в илеоцекальных железах кишечника цыплят породы Доминант, несмотря на введение в организм вируса болезни Марека 3-его серотипа.

Увеличение экспрессии гена PTGS2 считают явным следствием воспалительных процессов в тканях кишечника цыплят. Несмотря на введение вирусных инфекционных агентов в организм птицы, отсутствие существенного повышения уровня экспрессии данного гена в кишечнике птицы говорит о том, что это не привело к воспалению. В данном исследовании оба вируса не оказали существенного влияния на лимфоидные клетки кишечника цыплят, в сравнении с данным показателем в контрольной группе. Так, в группе, инфицированной 1-м серотипом вируса болезни Марека, уровень экспрессии не превысил уровень контроля, а в группе, инфицированной 3-м серотипом вируса, было отмечено 2-кратное повышение по сравнению с уровнем экспрессии в контрольной группе.

В целом, обычно введение как вакцинных, так и полевых штаммов вызывает возрастание уровня экспрессии гена PTGS2, как это показано в предыдущих наших исследованиях [4]. Здесь же отсутствие данного эффекта может быть связано как с местной иммуносупрессией, так и с влиянием на кишечную микробиоту, на что явно указывают Perumbakkam с соавторами [6].

При анализе амплификации РНК гена IRF7 (рисунок №2) видно существенное превышение уровня экспрессии в обеих группах над уровнем контроля. Также, экспрессия в лимфоидных клетках илеоцекальных миндалин птиц, инфицированных 1-м серотипом вируса, в 4 раза превышает данный показатель в группе, птицам которой вводился 3-й серотип вируса болезни Марека. Ген IRF7 кодирует регуляторный фактор интерферона 7, играющего важную роль в активации транскрипции вирус-индуцированных клеточных генов [9].

Исследователи также отмечают, что вирус болезни Марека нацеливается на противодействие функционированию данного гена. Об этом сообщают Du с соавторами [1]. Ими сообщается, что уникальная короткая киназа 3 (Us3), обнаруживаемая в геноме всех трех серотипов

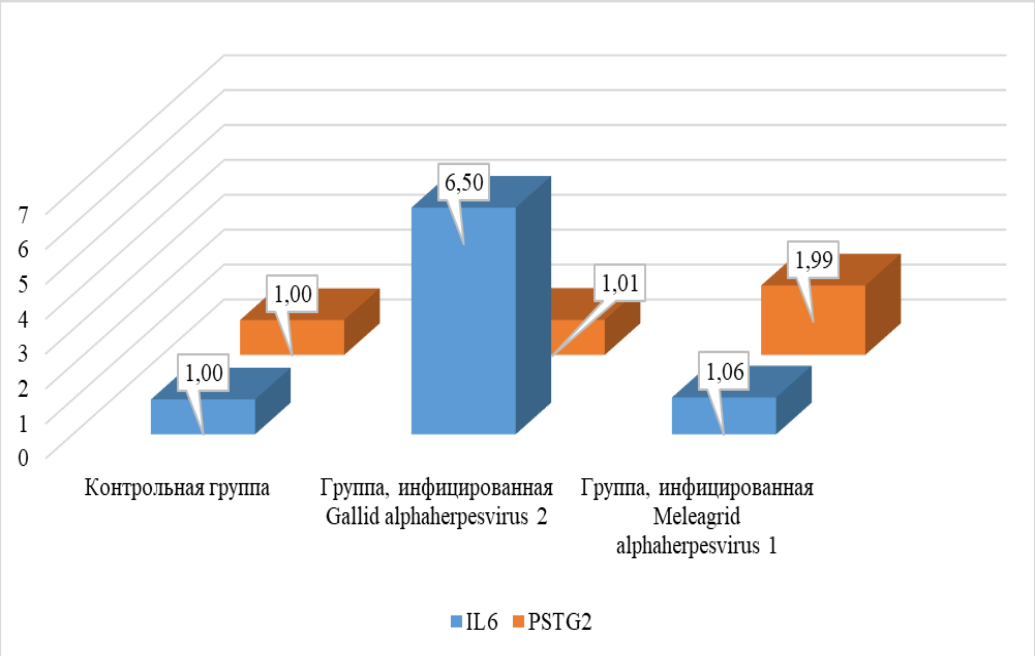


Рисунок 1 – Экспрессия генов IL6 и PTGS2 в тканях илеоцекальных миндалин цыплят породы Доминант на 14 сутки после инфицирования, Δ циклов.

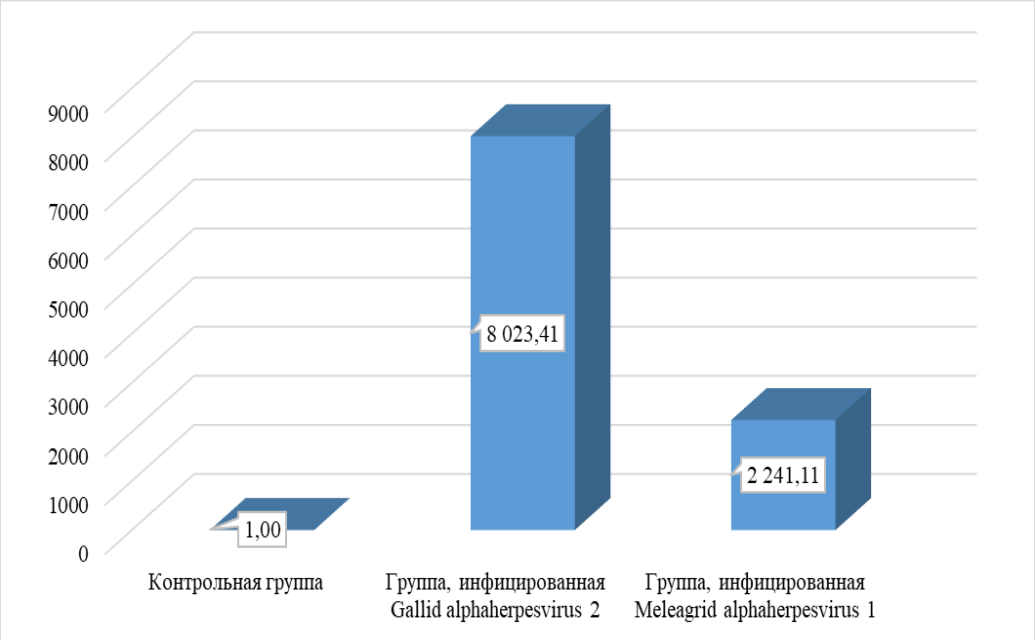


Рисунок 2 – Экспрессия гена IRF7 в тканях илеоцекальных миндалин цыплят породы Доминант на 14 сутки после инфицирования, Δ циклов.

вируса БМ, важна для репликации MDV. Данная киназа способна активно взаимодействовать с геном IRF7 клеток, что приводит к блокировке синтеза IFN-β, и лучшей репликации вируса болезни Марека.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Из полученных результатов следует, что экспрессия генов, кодирующих синтез цитокинов (IL6) и медиаторов воспаления (PTGS2), либо находилась в идентичном (либо незначительно превышающем) состоянии по сравнению с уровнем экспрессии данных генов в группе контроля, либо были существенно подавлены иммунодепрессивными свойствами вируса болезни Марека.

Также, при исследовании экспрессии гена IRF7 было обнаружено значительное воздействие вирусов обоих серотипов на данный ген. Был сделан вывод, что воздействие 1-го серотипа вируса болезни Марека на активацию данного гена существенно сильнее (в 4 раза) по сравнению с эффектом на организм герпесвируса индеек (3-его серотипа вируса болезни Марека).

Данные результаты могут свидетельствовать о том, что резко возрастающая экспрессия гена IRF7 может быть признаком репликации вируса болезни Марека (так как Gallid alphaherpesvirus 2 и Meleagrid alphaherpesvirus 1 взаимодействуют с одним и тем же клеточным рецептором, на этом основан вакцинный эффект Meleagrid alphaherpesvirus 1). С другой стороны, можно сделать вывод, что введение данных вирусов не вызывает воспалительных и иммунных реакций в илеоцекальных миндалинах птицы.

NATURE OF EXPRESSION OF BIRD IMMUNITY GENES DURING INFECTION BY GALLID ALPHAHERPESVIRUS 2 AND MELEAGRID ALPHAHERPESVIRUS 1

Tarlavin N.V. * – Ph.D., assistant at the Department of Epizootology named after. V.P. Urbana; **Veretennikov V.V.** – Ph.D., assistant at the Department of Epizootology named after. V.P. Urbana; **Javadov E.J.** – Doctor of V.S., Professor of the Department of Epizootology named after. V.P. Urbana; **Kraskov D.A.** – postgraduate student of the Department of Epizootology named after. V.P. Urbana; **Sidorenko K.V.** – Ph.D., assistant at the Department of Biology, Ecology and Histology; **Makhnin I.A.** – Assistant at the Department of Biochemistry and Physiology.

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*tarlav1995@bk.ru

The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 22-26-20084, https://rscf.ru/project/22-26-20084/

ABSTRACT

Marek's disease is a dangerous immunosuppressive viral disease of poultry. Most egg poultry farm in the Russian Federation vaccinate their chickens on the first day of life against this viral disease. Thanks to this vaccine prevention tactic, poultry farms protect themselves from the outbreak of this disease and economic damage. Traditionally, among the viruses related to this disease, there are the 1st serotype of the Marek's disease virus (Gallid alphaherpesvirus 2) and the 3rd serotype of the Marek's disease virus, which is not such in a strict taxonomic sense (Meleagrid alphaherpesvirus 1, also called turkey herpesvirus). When poultry is infected, this virus causes a significant change in the expression of the main immunity genes (IL6, PTGS2, IRF7). Based on the results obtained, it was concluded that the expression of the IL6 and PTGS2 genes was slightly higher than the level of expression of these genes in the control group. It is possible that local immunity was suppressed by the immunosuppressive properties of the Marek's disease virus. When studying the expression of the IRF7 gene, a strong effect of viruses of both serotypes on this gene was found, and Gallid alphaherpesvirus 2 exceeded the level of this effect compared to the effect of Meleagrid alphaherpesvirus 1 by 4 times. These results may indicate that sharply increasing expression of the IRF7 gene may be a sign of Marek's disease virus

replication (since Gallid alphaherpesvirus 2 and Meleagrid alphaherpesvirus 1 interact with the same cellular receptor, the vaccine effect of Meleagrid alphaherpesvirus 1 is based on this). On the other hand, we can conclude that the introduction of these viruses does not cause inflammatory and immune reactions in the ileocecal tonsils of birds.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Du X., Zhou D., Zhou J., Xue J., Wang G., Cheng Z. Marek's disease virus serine/ threonine kinase Us3 facilitates viral replication by targeting IRF7 to block IFN-β production. Vet Microbiol. 2022, 266:109364. doi: 10.1016/j.vetmic.2022.109364.

2.Heidari M., Heidari F., Huanmin S. Huanmin Z. Immune Responses in Cecal Tonsils of Marek's Disease Virus–Infected Chickens. Avian Diseases. 2015, 59. doi: 10.1637/10950-093014-Reg.1.

3.Kaiser P., Underwood G., Davison F. Differential cytokine responses following Marek's disease virus infection of chickens differing in resistance to Marek's disease. J Virol. 2003, 77(1):762-8. doi: 10.1128/ jvi.77.1.762-768.2003.

4.Kamble N., Gurung A., Kaufer B.B., Pathan A.A., Behboudi S. Marek's Disease Virus Modulates T Cell Proliferation via Activation of Cyclooxygenase 2-Dependent Prostaglandin E2. Front Immunol. 2021, 22, 12:801781. doi: 10.3389/ fimmu.2021.801781.

5.Ma W., Huang G., Wang Z., Wang L., Gao Q. IRF7: role and regulation in immunity and autoimmunity. Front Immunol. 2023, 10;14:1236923. doi: 10.3389/ fimmu.2023.1236923.

6.Perumbakkam S., Hunt H.D., Cheng H.H. Marek's disease virus influences the core gut microbiome of the chicken during the early and late phases of viral replication. FEMS Microbiol Ecol. 2014, 90(1):300-312. doi: 10.1111/1574-6941.12392.

7.Tanaka T., Narazaki M., Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. Cold Spring Harbor perspectives in biology. 2014, № 10(6): a016295.

8. Джавадов Э.Д., Веретенников В.В., Тарлавин Н.В., Красков Д.А. Болезнь Марека - современное представление о болезни и её профилактике. Эффективное животноводство. 2023. № 3(185). С. 35-37. doi: 10.24412/cl-33489-2023-3-35-37.

9. Тарлавин Н.В., Веретенников В.В., Джавадов Э.Д., Красков Д.А. Изучение экспресии ключевых генов неспецифического иммунного ответа в организме gallus gallus domesticus под влиянием инфицирования иммунодепрессивными вакцинными вирусами. Международный вестник ветеринарии. 2022, № 4, С. 34-41. doi: 10.52419/ISSN2072-2419.2022.4.34.

10. Тарлавин Н.В. Иммуногенные свойства иммунокомплексной вакцины против инфекционной бурсальной болезни: специальность 06.02.02 "Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология": диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук / Тарлавин Николай Владимирович. – Санкт-Петербург, 2022. – 142 с.

REFERENCES

1. Du X., Zhou D., Zhou J., Xue J., Wang G., Cheng Z. Marek's disease virus serine/ threonine kinase Us3 facilitates viral replication by targeting IRF7 to block IFN-β production. Vet Microbiol. 2022, 266:109364. doi: 10.1016/j.vetmic.2022.109364.

2. Heidari M., Heidari F., Huanmin S. Huanmin Z.. Immune Responses in Cecal Tonsils of Marek's Disease Virus–Infected Chickens. Avian diseases. 2015, 59. doi: 10.1637/10950-093014-Reg.1.

3. Kaiser P., Underwood G., Davison F. Differential cytokine responses following Marek's disease virus infection of chickens differing in resistance to Marek's disease. J Virol. 2003, 77(1):762-8. doi: 10.1128/ jvi.77.1.762-768.2003.

4. Kamble N., Gurung A., Kaufer B.B., Pathan A.A., Behboudi S. Marek's Disease Virus Modulates T Cell Proliferation via Activation of Cyclooxygenase 2-Dependent Prostaglandin E2. Front Immunol. 2021, 22, 12:801781. doi: 10.3389/ fimmu.2021.801781.

5. Ma W., Huang G., Wang Z., Wang L., Gao Q. IRF7: role and regulation in immuni-

ty and autoimmunity. Front Immunol. 2023, 10;14:1236923. doi: 10.3389/fimmu.2023.1236923.
6. Perumbakkam S., Hunt H.D., Cheng H.H. Marek's disease virus influences the core gut microbiome of the chicken during the early and late phases of viral replication. FEMS Microbiol Ecol. 2014, 90(1):300-312. doi:10.1111/1574-6941.12392.
7. Tanaka T., Narazaki M., Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. Cold Spring Harbor perspectives in biology. 2014, no. 10(6): a016295.
8. Javadov E.D., Veretennikov V.V., Tarlavin N.V., Kraskov D.A. Marek's disease is a modern understanding of the disease and its prevention. Efficient livestock farming. 2023. No. 3(185). pp. 35-37. doi: 10.24412/cl-33489-2023-3-35-37.
9. Tarlavin N.V., Veretennikov V.V., Javadov E.D., Kraskov D.A. Study of the expression of key genes of nonspecific immune response in the body of gallus gallus domesticus under the influence of infection with immunosuppressive vaccine viruses. International Bulletin of Veterinary Medicine. 2022, No. 4, pp. 34-41. doi: 10.52419/ISSN2072-2419.2022.4.34.
10. Tarlavin N.V. Immunogenic properties of an immunocomplex vaccine against infectious bursal disease: specialty 06.02.02 “Veterinary microbiology, virology, epizootology, mycology with mycotoxicology and immunology”: dissertation for the degree of candidate of veterinary sciences / Nikolay Vladimirovich Tarlavin. – St. Petersburg, 2022. – 142 p.

УДК: 619:616.9/615.371
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.37

РОЛЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ И КАТИОННЫХ БЕЛКОВ В КАЧЕСТВЕ БИОМАРКЕРОВ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ И НЕИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЖИВОТНЫХ

Пименов Н.В.* – д-р биол. наук, проф. кафедры иммунологии и биотехнологии, (ORCID: 0000-0003-1658-1949); **Лаптев С.В.** – канд. биол. наук, доц. кафедры иммунологии и биотехнологии, (ORCID: 0000-0002-3023-6976); **Пермякова К.Ю.** – ст. препод. кафедры иммунологии и биотехнологии (ORCID: 0000-0002-3579-4416); **Марзанова С.Н.** – канд. биол. наук, доц. кафедры иммунологии и биотехнологии, (ORCID: 0000-0001-9895-8046); **Иванникова Р.Ф.** – канд. биол. наук, доцент кафедры физиологии, фармакологии и токсикологии, (ORCID: 0000-0002-3522-0447).

ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»

*pimenov-nikolai@yandex.ru

***Ключевые слова**: иммунитет, нейтрофилы, макрофаги, фагоцитоз, катионные белки, сепсис.*

***Key worlds:** immunity, neutrophils, macrophages, phagocytosis, cationic proteins, sepsis.*

***Финансирование.** Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-26-00091, https://rscf.ru/project/22-26-00091*

Поступила: 05.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Определяющую роль в первичной реакции организма на микробные агенты играет врожденный иммунитет. Он реализуется посредством активации клеточных и гуморальных факторов неспецифической резистентности – нейтрофилов, макрофагов и секретируемых ими антимикробных и регуляторных веществ, запускающих, в свою очередь, каскад реакций с участием лимфоцитов. На поверхности слизистых оболочек и в мукозальных секретах нейтрофилы реализуют свою функцию не только посредством фагоцитоза, но и за счет выброса ДНК и бактерицидных гранул, образующих нейтрофильные внеклеточные ловушки. Нарушение функционирования этих клеток на поверхности слизистых оболочек рассматривается как один из факторов формирования патологических микробных сообществ, приводящих к развитию дисбиозов и воспаления различной локализации. Завершенный характер фагоцитоза обеспечивают микробицидные системы лейкоцитов: катионные белки и миелопероксидаза. Они имеют особое иммунологическое значение и оказывают влияние на течение и исход заболевания. Миелопероксидаза и катионные белки являются основными факторами бактерицидной защиты.

Зеркалом функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов служит цитоплазматическая зернистость. При интоксикации гранулы нейтрофилов становятся более крупными, чем в норме, а септический процесс может сопровождаться вакуолизацией цитоплазмы [16].

Развитие воспалительно-гнойных заболеваний и сепсиса сопровождается возрастанием в крови больных животных количества нейтрофилов с незначительным содержанием гранул или даже с гомогенной цитоплазмой, что является признаком глубокой депрессии функциональных возможностей системы нейтрофильных гранулоцитов. Существует обширный список заболеваний и патологических процессов у животных, при которых происходит повреждение врожденных барьеров организма, которые в норме предотвращают проникновение бактерий и их компонентов. Присутствие бактерий или их компонентов (септицемия/ эндотоксемия) в циркуляторном русле вызывает иммунологический ответ, который, в конечном счете, приводит к экспрессии генов, обеспечивающих трансляцию и высвобождение белков острой фазы и цитокинов. Эти процессы приводят к критической дисфункции сердечно-сосудистой системы, активации комплемента, недостаточности органов и смерти [6].

Катионные белки образуются в гранулоцитах и хранятся в их гранулах. Они несут значительный положительный заряд на поверхности белковой мицеллы (отсюда их название – катионные белки). Изучение структурных, антимикробных, цитотоксических и механистических свойств катионных белков гранулоцитов расширяет знания, необходимые для разработки этих пептидов в качестве биомаркеров тяжести течения инфекционных заболеваний и новых терапевтических альтернатив антибиотикам [15].

Эффекты катионных белков:

•Высокая неспецифическая бактерицидная активность.

•Во время воспалительного процесса катионные белки могут высвобождаться во внеклеточную среду и участвовать в реабсорбции иммунных комплексов и нейтрализации бактерий и вирусов, локализованных во внеклеточной среде, тем самым дополнительно высвобождая миелопероксидазу из нейтрофильных гранулоцитов. Это приводит к внутриклеточному снижению содержания катионных белков и миелопероксидазы.

•Повышенная проницаемость стенок микрососудов (катионные белки действуют как сигнал для высвобождения гистамина).

•Усиление эмиграции лейкоцитов.

•Активизация контакта нейтрофилов и макрофагов с микробами и другими объектами фагоцитоза.

Катионные белки в малых концентрациях стимулируют, а в больших – подавляют основные биохимические процессы в клетках очага воспаления, что дает основание отнести катионные белки к медиаторам воспаления.

Во время воспалительного процесса они могут высвобождаться во внеклеточную среду и участвовать в реабсорбции иммунных комплексов и нейтрализации бактерий и вирусов, локализованных во внеклеточной среде, тем самым дополнительно высвобождая миелопероксидазу из нейтрофильных гранулоцитов. Это приводит к внутриклеточному снижению содержания катионных белков и миелопероксидазы [9; 2]. Так, у здоровых телят из экологически благополучных районов (ЭБР) содержание катионных белков в нейтрофильных гранулоцитах было выше (1,34±0,16), чем у здоровых телят (1,05±0,02) из экологически неблагополучных районов (ЭНР), что достоверно свидетельствует о функциональной противомикробной системе нейтрофилов у новорожденных телят. Содержание катионных белков в нейтрофильных гранулоцитах у новорожденных телят из ЭНР со среднетяжелой формой колибактериоза в остром периоде составила (0,81±0,07), что на 23,9% ниже, чем у здоровых телят в тех же хозяйствах (1,05±0,02). У больных телят из хозяйств ЭБР содержание катионного белка составило (0,98±0,20). В

период выздоровления содержание катионного белка увеличивалось в среднем на 17%, разница показателя была достоверной (P<0,05) [8].

В качестве индикатора активности нейтрофилов миелоперкосидаза может служить маркером интенсивности воспалительного процесса [18]. У собак при II, III и IV степени хронической почечной недостаточности (ХПН) установили низкие значения среднего цитохимического показателя (СЦК) катионных белков. Так, СЦК у здоровых животных был 0,99±0,09; у особей с I степенью ХПН – 1,05±0,07 (то есть он входил в интервал референтных значений 0,90 – 1,08 для здоровых особей по данной выборке); со II степенью ХПН – 0,63±0,07; с III степенью ХПН – 0,30±0,13 и с IV степенью ХПН – 0,15±0,05. Снижение СЦК в третьей – пятой группах относительно первой составляло соответствен но 36,4 % (p<0,01), 69,7 % (p<0,01), и 84,9 % (p<0,001) [4]. Это свидетельствует о снижении активности лизосомальных катионных белков пропорционально степени почечной недостаточности. Эффективность действия антимикробных пептидов зависит, в том числе и от их концентрации, поэтому постоянное снижение среднего цитохимического показателя катионных белков в нейтрофильных гранулоцитах у собак с хронической почечной недостаточностью приводит к ослаблению защиты против широкого спектра микроорганизмов (грамотрицательных и грамположительных бактерий, грибов, вирусов).

У инфицированного молодняка крупного рогатого скота до годовалого возраста выявлена однонаправленная трансформация, характеризующаяся снижением числа неактивных клеток на 28,5-45,0%, увеличением количества нейтрофильных гранулоцитов с высокой степенью активности антимикробных пептидов на 16,4-41,5% [3]. С полуторагодовалого возраста наблюдается противоположная траектория изменений, характеризующаяся снижением катионных белков и миелопероксидазы на 29,8 и 18,1% соответственно.

Так, у цыплят в первой декаде жизни отмечался рост содержания моноцитов – до 348,84% (p<0,05). Со второй декады отмечалось уменьшение индексов соотношения гранулоцитов с дегранулированными и декатионизированными лизосомальными гранулами катионных белков. Этот период отличался активным расходованием катионных белков. При относительном сохранении расходования катионных белков с третьей на четвёртую декаду, средний цитохимический коэффициент (СЦК) уменьшался на 25,29%. Кроме того, происходило активное восстановление паритета концентрации катионных белков, что является одним из звеньев восстановления и поддержания гомеостаза неспецифического иммунитета.

В ответ на бактериальную инфекцию как псевдотуберкулезную, так и листериозную показатели активности катионных белков были отрицательными и их динамика носила волнообразный характер. Это свидетельствовало о дегрануляции клетками катионных белков при их взаимодействии с бактериями [17].

В ответ на внутрибрюшинное заражение животных Y. pseudotuberculosis при нарастающем повышении активности МП до 193,96±2,33% (p<0,01) (19 ч после заражения) отмечалось снижение показателей суммарной активности ферментов дыхательной цепи в НСТ-тесте; через 7 ч после заражения L. monocytogenes выявлено достоверное повышение показателей НСТ-теста до 43,39±2,06% (p<0,05). Исследование активности ферментов нейтрофильных гранулоцитов, принимающих участие в преобразовании молекул кислорода, показало различную интенсивность респираторного метаболизма этих клеток в ответ на заражение Y. pseudotuberculosis и L. monocytogenes. Необходимо отметить отличие в активности изученных ферментов нейтрофилов в зависимости от их принадлежности к системному кровотоку или месту воспаления (перитониальный экссудат) в использованных моделей исследования in vitro или in vivo. Это объясняется состоянием «праймированности» нейтрофилов места

воспаления, согласно которому эти клетки, покидая кровоток, достигают активированного состояния с повышенным уровнем протекания процессов их метаболизма. Поэтому при дополнительной стимуляции (заражении бактериями) у таких нейтрофилов по сравнению с клетками крови обнаруживается снижение внутриклеточного содержания ферментов и катионных белков [2].

В настоящее время воспалительные и иммунные реакции рассматриваются в неразрывном единстве. Нейтрофилы действуют как первая линия иммунной защиты [41; 37] и представляют собой уникальную мультипотентную популяцию клеток иммунной системы, которые относятся к врожденному иммунитету и могут активировать и регулировать адаптивный иммунитет. Различные рецепторы селектинов, интегринов, хемотрактантов, хемокинов, компонентов комплемента, эндотоксинов, цитокинов, гормонов, нейропептидов, рецепторов распознавания образов, рецепторов индукции апоптоза и т.д. расположены на поверхности нейтрофилов. Сохранение пула рецепторов происходит в нейтрофильном гранулярном аппарате.

Рецепторы, необходимые в данный момент, перемещаются по поверхностной мембране под воздействием различных активаторов [13]. Нейтрофилы отвечают респираторным взрывом на различные антигенные воздействия. Они обладают наибольшей способностью генерировать активные формы кислорода и хлора, осуществляя кислород-зависимый киллинг микробов. Кислороднезависимая бактерицидная система нейтрофилов включает катионных белков, ферменты, лактоферрин и другие субстанции гранул нейтрофилов [61].

Уникальным механизмом противомикробной защиты является формирование нейтрофильных экстрацеллюлярных сетей (нейтрофильных внеклеточных ловушек, NET). Сети образуются и реализуют свое действие (внеклеточный киллинг микроорганизмов) в момент активной смерти нейтрофила, называемой NETosis. Образование сетей является контролируемым процессом и его можно рассматривать как альтернативу фагоцитозу. Наиболее важными отличиями нетоза от апоптоза и некроза являются распад ядерной оболочки и смешивание ядерного и цитоплазматического материала, потеря внутренней мембраны и исчезновение цитоплазматических органелл [10].

Описан механизм, так называемого, быстрого или прижизненного нетоза (vital NETosis), который запускается под влиянием микробов через 5-30 мин. после активации нейтрофила. Клетка лишается ядра, но сохраняет способность двигаться и фагоцитировать [53]. Высокоактивная смесь, попав во внеклеточное пространство, формирует сеть-«ловушку» (НВЛ), в которую и попадают бактерии. Нейтрофил при этом погибает [20].

Ловушка представляет из себя трёхмерную сеть в межклеточном пространстве. Её остов формирует ДНК, на нити которой адсорбированы гистоны и белки гранул нейтрофилов: микробицидные ферменты, антибактериальные катионные белки, нейтральные сериновые протеазы, металлопротеиназы, кислые гидролазы, продукты респираторного взрыва – перекись водорода, гидроксильный радикал, галогены, атомарный кислород, оксид азота, пероксинитрит и другие, в том числе и миелопероксидаза

Важен баланс между образованием и разрушением нейтрофильных внеклеточных ловушек. Так, нарушение их образования приводит к тяжелым гнойно-септическим процессам. Избыточное образование НВЛ показано при аутоиммунных заболеваниях, бронхиальной астме, респираторном дистресс синдроме, преэклампсии, тромбозе [32; 31; 39].

Нейтрофильные экстрацеллюлярные сети нейтрофильных гранулоцитов – уникальный механизм противомикробной защиты [5]. Осуществляя внеклеточный киллинг микроорганизмов, нейтрофильные гранулоциты погибают через NET [52]. При экстрацеллюлярной дегрануляции при образовании NET продукты гранул, «залипая» в сетях ядерной или мито-

хондриальной ДНК, выстрелившей из нейтрофильных гранулоцитов, осуществляют внеклеточный киллинг микроорганизмов. Формирование NET – финальный шаг программы активной клеточной смерти: NET образуются и реализуют свои действия в момент активной смерти нейтрофильных гранулоцитов. NET формируются путем сложных морфологических перестроек в ядре клетки [28].

Сетевые структуры появляются после дезинтеграции ядерной оболочки и гранулярных мембран. Морфология цитоплазмы и органелл остается неизмененной и интактной, нет фрагментации ДНК и фосфатидилсерин не экспонируется перед клеточной смертью. Во время формирования NET не наблюдается активации каспаз, необходимых для запуска клеточной смерти через апоптоз. Клеточная смерть, возникающая в процессе формирования NET. Она зависит от наработки активных форм кислорода через активацию NADPH -оксидазы нейтрофильных гранулоцитов [28]. Хемокиновый рецептор опосредует образование NET, а блокада CXCR2-рецептора молекулами антагонистов приводит к подавлению образования NET, что коррелирует с благоприятным клиническим состоянием и свидетельствует об их патогенетической значимости [44].

Микробы, иммунные комплексы, аутоантитела, цитокины и другие стимулы могут индуцировать NETosis [38]. Разнообразие белков NET зависит от стимула, который вызывает NETosis [29].

Факторы вирулентности бактерий могут оказывать нейтрализующие влияния на активность NET, например ДНКазы бактерий, вызывают деградацию ДНК NET. Описаны врожденные дефекты формирования NET при хронической гранулематозной болезни [33]. Также, дефектное формирование NET может быть причиной развития тяжелой гнойно-септической патологии [27]. Феномен формирования NET выявлен при некоторых патологических состояниях: стрептококковых инфекциях, пневмококковой пневмонии и при сепсисе [57].

Широкое разнообразие патогенов (бактерии, грибы, простейшие, паразиты и даже вирусы) может вызвать образование NET и быть убитыми НГ. В дополнение к позитивной роли NET (внеклеточный киллинг микроорганизмов: вирусов, бактерий, грибов) показаны их негативные эффекты при некоторых иммунозависимых заболеваниях. Так, NET принимает активное участие в развитии аутоиммунного воспаления. Активация оси тромбоциты-НГ приводит к возникновению NET и формированию тромбов, в том числе при сепсисе. Установлено участие NET в повреждении тканей. NET могут разрушить кишечные эпителиальные клетки, эндотелий, особенно при сепсисе [55].

Другой побочный эффект NET – это гиперактивация системы коагуляции, наблюдаемая при сепсисе (синдром внутрисосудистого свертывания) [28]. Исход воспаления сопровождается замещением нейтрофилов в очаге воспаления моноцитами. На поздних этапах в очаге воспаления преобладают апоптические нейтрофилы, которые вызывают дифференцировку макрофагов в M2 (IL- 10high, IL12low) [22].

Исход воспаления зависит от ликвидации этиологического фактора, удаления некротических клеток, накопления апоптических клеток, появления иммунных комплексов, аннексина-1, смены цитокинов Th1 (ИЛ-1β, ФНО, ИНФ-γ) на цитокины Th2 (ИЛ-4, ИЛ-6), секреции ИЛ -10, TGF-β, синтеза резолвинов, протектинов, маресинов. Макрофаги завершают острое воспаление, активируя процессы пролиферации и регенерации и инициируют формирование приобретенного иммунитета. При сохранении источника DAMPs формируется хроническое воспаление [35].

Первая линия защиты организма от инфекции включает фагоцитоз при участии лизоцима, катионных белков и гидролитических ферментов. Катионных белки нейтрофилов являются модуляторами воспалительных реакций организма при сепсисе, который характеризуется присутствием микроорганизмов и их ток-

синов в крови. Выявлено достоверное повышение нейтрофильных гранулоцитов с различной степенью содержания в них гранул катионных белков, выраженной в виде среднего цитохимического коэффициента. При этом отмечено отсутствие маркерной динамики в клинико-гематологических показателях при гнойно-септических послеродовых осложнениях у коров, что определило прогностическую ценность теста на катионные белки. Генерализация бактериозов приводит в дальнейшем к снижению среднего цитохимического индекса катионных белков нейтрофилов, что свидетельствует о неблагоприятном прогнозе развития инфекционно-воспалительного процесса.

Количество гранул нейтрофильных гранулоцитов и интенсивность окраски позволяет судить о состоянии кислородзависимой биоцидной системы нейтрофилов. Мощный рецепторный состав обеспечивает связь между собой и клетками иммунной системы, с клетками эндотелия, эпителия и других тканей. Активация нейтрофильных гранулоцитов способствуют транслокации из цитоплазматических гранул и везикул молекул на поверхностную цитоплазматическую мембрану, секреции про- и противовоспалительных цитокинов, регуляторных белков и т. д. Происходит дифференцировка нейтрофильных гранулоцитов [51], обеспечивающая участие их в процессах внутриклеточной интрафагосомальной дегрануляции, киллинге и элиминации фагоцитированных микроорганизмов, а также во внеклеточной дегрануляции при формировании нейтрофильных экстрацеллюлярных сетей. Нейтрофильные гранулоциты подразделяют на субпопуляции: регуляторные; супрессорные; провоспалительные – инициирующие воспалительную реакцию; воспалительные с позитивным микробицидным потенциалом (антибактериальным, противовирусным, противогрибковым); воспалительные с негативным цитотоксическим потенциалом – «агрессивные»; противовоспалительные – регулирующие регрессию воспаления; противоопухолевые – TAN1; проопухолевые – TAN2; гибридные, сочетающие свойства НГ и дендритных клеток. Отсутствие адекватного реагирования, гиперактивация или блокада функций НГ приводит к развитию вялотекущих инфекционно-воспалительных заболеваний, не отвечающих на традиционную терапию, аутоиммунных/ хронических заболеваний иммунозависимых процессов [12].

Сепсис имеет самые тяжелые последствия и характеризуется высокой летальностью. Это происходит на фоне нарушений функционирования иммунной системы и дефектных нейтрофильных гранулоцитов, что способствует быстрому диссеминированию инфекции и, как следствие – смерти [59; 48].

Описаны три важных нарушения нейтрофильных гранулоцитов, которые способствуют возникновению тяжелого сепсиса и септического шока: нейтропения, сниженная пластичность и запоздалый апоптоз [45].

При сепсисе и синдроме системной воспалительной реакции (ССВР) в циркуляции появляется большое количество незрелых форм нейтрофильных гранулоцитов. Они характеризуются снижением фагоцитарной функциональной активности и нарушением миграционной способности, имеют более длинный жизненный цикл, резистентны к спонтанному апоптозу и могут созревать ex vivo [25].

Различные фенотипические профили и уровень оснащенности поверхностными рецепторами связаны с морфологическими особенностями и определяют функциональный потенциал нейтрофильных гранулоцитов – цитокинопродукцию, трансэндотелиальную миграцию, внутриклеточный и внеклеточный киллинг, образование NET [13; 14].

Индуцирующие цитокиновые стимулы дифференцируют нейтрофильные гранулоциты в уникальную гибридную популяцию с дуальными фенотипическими и функциональными свойствами, характерными как для нейтрофильных гранулоцитов, так и дендритных клеток, участвующую во врожденной и адаптивной иммун-

ной реакции [46]. Рецепторы гранулоцитов распознают эндогенные молекулы «опасности», через которые происходит активация клетки и включение ее в реакцию воспаления [47].

Инициация апоптоза нейтрофильных гранулоцитов в клинически здоровом организме осуществляется рецепторным путем под влиянием TNF-α, лиганда sTRAIL и IL-4 [23]. Описаны пути сигнала активации, в результате которого запускается синтез цитокина IL-23, индуцирующего образование Th17-клеток [7]. Рецепторы сохраняются внутриклеточно в гранулярном аппарате нейтрофильных гранулоцитов на мембране секреторных везикул, желатиназных и специфических гранул, а под воздействием активаторов транслоцируются на поверхностную мембрану клетки [26].

Благодаря кислородзависимым и кислороднезависимым механизмам, нейтрофильные гранулоциты обеспечивают выполнение микробицидной, цитотоксической и цитолитической функций, инициируя развитие базисной воспалительной реакции. Цитолитический и цитотоксический потенциал сконцентрирован в гранулярном аппарате и секреторных везикулах, которые являются не только хранилищами протеолитических и бактерицидных протеинов до момента их активации и высвобождения либо во внеклеточное пространство при формировании NET, либо в фагоцитарные вакуоли, но и содержат важный резерв мембранных белков, встраивающихся в поверхностную мембрану нейтрофильных гранулоцитов при экзоцитозе этих органелл [11].

Существуют три основных типа гранул нейтрофильных гранулоцитов – первичные (азурофильные), вторичные (специфические), третичные (желатиназные) и секреторные везикулы. Нейтрофильные гранулоциты способны отвечать «респираторным взрывом» на различные антигенные воздействия, обладая феноменом внутриклеточной (внутрифагосомальной) и/или трансмембранной (экстрацеллюлярной, посредством экзоцитоза) дегрануляции. Продукты гранул, обладая цитолитическим действием, регулируют функционирование как самих нейтрофильных гранулоцитов, так и других клеток по паракринным и аутокринным механизмам [50; 60]. Нейтрофильные гранулоциты обладают высокой способностью осуществлять внутрифагосомальный киллинг бактерий за счет наработки высоких концентраций активных форм кислорода, супероксид-аниона, гидрогенпероксида, хлорноватистой кислоты [58]. Под влиянием разнообразных индуцирующих стимулов нейтрофильный гранулоцит секретирует большой спектр провоспалительных и противовоспалительных цитокинов; иммунорегуляторных цитокинов; колониестимулирующих факторов; ангиогенных и фиброгенных факторов, других цитокинов, различных регуляторных белков и т.д. [43; 54].

Понимание механизмов модуляции нейтрофильных гранулоцитов цитокинами и другими регуляторными пептидами позволяет глубже познать то, как они могут влиять на патофизиологические процессы [30; 55]. Так, нейтрофильные гранулоциты способны к транскрипционно-зависимому синтезу конститутивных и индуцированных белков теплового шока, обладающих выраженными протективными свойствами [1]. Эти клетки могут также повышать экспрессию генов, вовлекаемых в реализацию фагоцитарной функции и отвечать на воздействие провоспалительных цитокинов дифференцировкой с приобретением рецепторов, присущих антигенпрезентирующим клеткам [36; 40; 56].

Длительность жизни нейтрофильных гранулоцитов увеличивается в сайте воспаления, что индуцируется цитокинами микроокружения при их контакте с ЛПС [21]. В противоположность этому, противовоспалительные цитокины, такие как IL -10, ускоряют апоптоз в ЛПС-активированных НГ [34]. IL-17 регулирует гомеостаз нейтрофильных гранулоцитов и влияет на воспаление, ослабляя его в тканях посредством торможения апоптоза гранулоцитов, индуцированного

провоспалительными цитокинами [24].

Глобальные изменения в генной экспрессии нейтрофильных гранулоцитов, возникающие во время рецептор-медиированного фагоцитоза, могут влиять на клетки, позитивно или негативно регулируя процессы апоптоза, а, следовательно, влиять на интенсивность и исход бактериального воспаления [40].

Метод поляризационной микроскопии позволяет эффективно тестировать структурные характеристики ядерного материала нейтрофильных гранулоцитов на разных этапах функционирования клетки. Снижение уровня анизотропии указывает на биологическую активацию хроматина, что является предпосылкой для появления матричной активности ДНК и, возможно, последующего белкового синтеза. Известны две функции хроматина: первая состоит в том, что он в больших количествах входит в состав ДНК; вторая – он используется в качестве оружия для защиты целостности генома [19]. Следует отметить, что АТФ-зависимое ремоделирование хроматина является неотъемлемой частью поддержания константности генома [49]. Показано, что изменения структуры хроматина являются регуляторным механизмом, управляющим транскрипцией генов цитокинов [42]. При бактериальной инфекции происходит «модификации гистонов» и ремоделирования хроматина. Изменения структуры хроматина могут влиять на генную экспрессию в нейтрофильных гранулоцитах [62].

Нейтрофильные гранулоциты имеют три пути для реализации клеточной смерти: некроз, апоптоз и NETosis. В результате некроза, происходит лизис цитоплазматической мембраны и выход содержимого гранулоцитов в окружающие ткани, что приводит к чрезмерной продукции цитокинов, и, нередко, к гиперактивации иммунной системы с развитием локальной и системной воспалительной реакции и повреждением органов и тканей (гнойно-септические заболевания, аутоиммунные и аллергические болезни). Апоптоз играет важную роль в нейтрофильном гомеостазе и разрешении воспаления. Гибель нейтрофильных гранулоцитов может провоцироваться воспалительным экстрацеллюлярным микроокружением (провоспалительные цитокины, клеточная адгезия, фагоцитоз, эритроциты, тромбоциты) и приводить к нейтропении, которая осложняет течение сепсиса и других инфекционно-воспалительных заболеваний (ИВЗ) [12].

Апоптоз нейтрофильных гранулоцитов может лимитировать повреждающее действие воспаления при сепсисе. В то же время у пациентов с сепсисом апоптоз обратно пропорционален тяжести сепсиса и может служить маркером тяжести септического процесса. Стресс, в частности хирургический операционный стресс, негативно влияет на FAS-индуцированный апоптоз нейтрофильных гранулоцитов периферической крови, что ассоциировано со значительным снижением уровней сывороточных GM-CSF, IL-6, IL-8 в первый день после операции. При некрозе нарушается целостность самой клетки, она лизируется, но без развития изменений в гранулах и ядерной мембране. Сетеподобная структура, состоящая из молекулы ДНК и содержимого цитоплазматических гранул, при некрозе и апоптозе не образуется [28].

Таким образом, нейтрофильные гранулоциты являются зеркалом гомеостаза. В борьбе с патогенами они проявляют не только внутриклеточную фагоцитарную активность, но и уничтожают их при помощи формирования NET, выброса экстрацеллюлярных везикул. Нейтрофильные гранулоциты способны к синтезу белков de novo, то есть обладают белок -синтетической функцией, секретируют большое количество гранулярных ферментных и неферментных белков, обладающих антибактериальными и регуляторными свойствами, цитокинов, хемокинов, регуляторных молекул, ростовых факторов и др. На поверхностной мембране нейтрофильных гранулоцитов экспрессированы сотни различных молекул-рецепторов, обеспечивающих их связь с микроокружением и другими клетками

иммунной системы.

Однако, практически полностью отсутствуют сведения о свойствах, функциях и значении катионных белков гранулоцитов в прогностике гнойно-септических патологий в ветеринарной пропедевтике генерализации бактериозов высокоценных племенных сельскохозяйственных животных, что является важным и актуальным для продовольственной безопасности страны и успешного импортозамещения.

Полученные в результате выполнения проекта данные станут основой для разработки рекомендаций, обеспечивающих высокую достоверность в прогностике гнойно-септических патологий в ветеринарной пропедевтике генерализации бактериозов.

THE ROLE OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES AND CATIONIC PROTEINS AS BIOMARKERS OF THE SEVERITY OF INFECTIOUS AND NON -INFECTIOUS ANIMAL DISEASES

Pimenov N.V. – Doctor of Biological Sciences,Professor of the Department of Immunology and Biotechnology; **Laptev S.V. –** Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Immunology and Biotechnology; **Permyakova K.Yu.** – Senior lecturer of the Department of Immunology and Biotechnology; **Mazanova S.N.** – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Immunology and Biotechnology; **Ivannikova R.F.** – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Physiology, Pharmacology and Toxicology.

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA named after K.I. Skryabin»

*pimenov-nikolai@yandex.ru

ABSTRACT

Innate immunity plays a decisive role in the primary reaction of the body to microbial agents. It is realized through the activation of cellular and humoral factors of nonspecific resistance – neutrophils, macrophages and antimicrobial and regulatory substances secreted by them, which, in turn, trigger a cascade of reactions involving lymphocytes. On the surface of the mucous membranes and in mucosal secretions, neutrophils realize their function not only through phagocytosis, but also through the release of DNA and bactericidal granules that form neutrophil extracellular traps. Violation of the functioning of these cells on the surface of the mucous membranes is considered as one of the factors of the formation of pathological microbial communities, leading to the development of dysbiosis and inflammation of various localization. The completed character of phagocytosis is provided by microbicidal systems of leukocytes: cationic proteins and myeloperoxidase. They have a special immunological significance and influence the course and outcome of the disease. Myeloperoxidase and cationic proteins are the main factors of bactericidal protection.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Бойко А.А., Ветчинин С.С., Сапожников А.М., Коваленко Е.И. Изменение уровня белков теплового шока семейства 70 кДа в нейтрофилах человека под действием теплового шока // Биоорганическая химия. 2014. Т. 40. № 5. – С. 528-540.

2.Вишневский Е.А., Власенко В.С., Алексеева И.Г. Состояние лизосомального катионного белка и активности миелопероксидазы у кроликов, инфицированных ВЛКРС / Актуальные вопросы ветеринарии : Материалы Международной научно -практической конференции, посвященной 100-летию кафедры ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней факультета ветеринарной медицины ИВМиБ, Омск, 29 июня 2020 года. – Омск: Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, 2020. – С. 531-535. – EDN ZKHTUC.

3.Власенко В.С., Вишневский Е.А., Дудоладова Т.С. Катионные белки лизосом и миелопероксидаза в нейтрофилах молодняка крупного рогатого скота разного возраста при лейкозной инфекции / Достижения науки и техники АПК. – 2021. –

Т. 35. № 5. – С. 65-69. – DOI 10.24411/0235-2451-2021-10511.
4.Воронина О.А., Зайцев С.Ю., Брылина В.Е., Белоновская О.С. Оценка активности лизосомальных катионных белков гранулоцитов у животных с хронической почечной недостаточностью // Ветеринария. – 2017. – № 5. – С. 21-24. – EDN YOACNL.
5.Долгушин И.И., Шишков Ю.С., Савочкина А.Ю. Нейтрофильные ловушки и методы оценки функционального статуса нейтрофилов. Москва: РАМН, 2009. 208 с.
6.Каратеев Д.Е., Лучихина Е.Л. Ингибиторы интерлейкина 6 в терапии ревматоидного артрита. Эффективная фармакотерапия. 2022; 18 (8): 16–21. DOI 10.33978/2307-3586-2022-18-8-16-21.
7.Киселева Е.П. Новые представления о противоинфекционном иммунитете // Инфекция и иммунитет. 2011. Т. 1, № 1. – С. 9-14.
8.Ковальчук Н.М. Функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов у телят при острых кишечных инфекциях в условиях экологического неблагополучия // Известия Международной академии аграрного образования. – 2018. – № 42-2. – С. 51-54. – EDN YTUJDN
9.Королева О.И., Петрова Г.К., Шакирова Л.З. Прогностическое значение лизосомальных катионных белков оральных нейтрофилов при острой бронхолегочной патологии у подростков // Вопросы современной педиатрии. 2006. Т. 5 (1). – С. 282 –283.
10.Коротина О.Л., Генералов И.И. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, функции // Иммунопатология, Аллергология, Инфектология. – 2012. - N°4. – С. 23-32.
11.Кравцов А.Л., Шмелькова Т.П. Секреторная дегрануляция нейтрофилов как триггер воспаления и регулятор иммунного ответа: роль сериновых лейкоцитарных протеаз и протеолитически-активных рецепторов // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2011. № 1. С. 79—87.
12.Нестерова И.В., Н.В. Колесникова, Г.А. Чудилова и др. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. Часть 2 // Инфекция и иммунитет. – 2018. – Т. 8. № 1. – С. 7–18.
13.Нестерова И.В., Евглевский А.А., Чудилова Г.А. и др. Особенности реструктуризации хроматина и изменение уровня относительной экспрессии генов IL-8, IL-1P и TNF-α нейтрофильных гранулоцитов под влиянием глюкозаминилмурамилдипептида и интерферона у больных хроническим гайморитом в системе invitro // Иммунология. – 2015. – Т. 36. № 6. – С. 363-367.
14.Нестерова И.В., КолесниковаН.В., Клещенко Е.И. и др. Различные варианты дефектов функционирования нейтрофильных гранулоцитов при врожденных пневмониях у новорожденных // Российский иммунологический журнал. – 2012. – Т. 6, № 2. – С. 170-176.
15.Пименов Н.В., Пермякова К.Ю., Марзанова С.Н., Лаптев С.В., Бузмакова Н.А. Катионные белки нейтрофильных гранулоцитов в прогностике гнойно-септических послеродовых осложнений у коров // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2023. – № 1 (219). – С. 81–87.
16.Славинский А.А., Критерии функциональной активности нейтрофильных лейкоцитов, основанные на компьютерном анализе изображения и люминесценции. Автореферат диссертации на соискания ученой степени д.б.н. специальность 14.00.29. – Краснодар. 2000. – 38 с.
17.Сомова Л.М., Плехова Н.Г., Дробот Е.И. Реактивность фагоцитирующих клеток при инициации инфекционно-воспалительных процессов // Успехи современной биологии. – 2011. – Т. 131, № 1. – С. 37-49. – EDN NTKQDD.
18.Arnhold J. Human myeloperoxidase in innate and ackuired immunity // Arch Biochem. Biophys. 2010. Vol. 500 (1). P. 92–106. https://doi. org/10. 1201/b16753–6.
19.Brinkmann V., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps: is immunity the second function of chromatin? J. Cell Biol, 2012, vol. 198, pp. 773-783. doi: 10.1083/ jcb.201203170.
20.Bryan YippB. G., Kubes P. NETosis:

how vital is it? // Blood. – 2013. – Vol. 122. - Is.16. – P.2784-2794.
21.Buckley C.D., Ross E.A., McGettrick H.M. et al. Identification of a phenotypically and functionally distinct population of long-lived neutrophils in a model of reverse endothelial migration. J. Leukoc. Biol., 2006 vol. 79, pp. 303-311. doi: 10.1189/jlb.0905496.
22.Cai W., Qin A., Guo P. et al. Clinical significance and functional studies of myeloid-derived suppressor cells in chronic hepatitis C patients // J. Clin. Immunol. – 2013. – Vol.33. – P. 798–808.
23.Cassatella M.A. On the production of TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL/Apo-2L) by human neutrophils. J. Leukoc. Biol, 2006, vol. 79, pp.1140-1149. doi: 10.1189/jlb.1005558.
24.Dragon S., Saffar A.S., Shan L., Gounni A.S. IL-17 attenuates the anti-apoptotic effects of GM-CSF in human neutrophils. Mol. Immunol, 2008, vol. 45, no. 1,pp. 160-168. doi: 10.1016/j.molimm.2007.04.027.
25.Drifte G., Dunn-Siegrist I., Tissières P., Pugin J. Innate immune functions of immature neutrophils in patients with sepsis and severe systemic inflammatory response syndrome. Crit. Care Med., 2013, vol. 41, no. 3, pp. 820–832. doi: 10.1097/CCM.0b013e318274647d.
26.Elghetany M.T. Surface antigen changes during normal neutrophilic development: a critical review. Blood Cells Mol. Dis. 2002, vol. 28, no. 2, pp. 260-274.
27.Fadeel B. Babies born without safety NET. Blood, 2009, vol. 113, no. 25, pp.6270 -6271. doi: 10.1182/blood-2009-03-210328
28.Fuchs T.A., Brill A., Duerschmied D. et al. Extracellular DNA traps promote thrombosis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2010, vol. 107, no. 36, pp. 15880-15885. doi: 10.1073/pn as.1005743107.
29.Garcia-Romo G.S., Caielli S., Vega B. et al. Netting neutrophils are major inducers of type I IFN production in pediatric systemic lupus erythematosus. Sci. Transl. Med., 2011, vol. 3, pp. 73ra20. doi: 10.1126/scitranslmed.3001201.
30.Gougerot-Pocidalo M.A., El Benna J., Elbim C. et al. Regulation of human neutrophil oxidative burst by pro- and anti-inflammatory cytokines. J. Soc. Biol., 2002, vol. 196, no. 1, pp. 37-46.
31.Guarnotta C, Cappetti B, Casalini P, et al. Neutrophil extracellular traps mediate transfer of cytoplasmic neutrophil antigens to myeloid dendritic cells toward ANCA induction and associated autoimmunity // Blood. – 2012. – Vol.120. – P. 3007–3018.
32.Hakkim A, Furnrohr BG, Amann K. et.al.Impairment of neutrophil extracellular trap degradation is associated with lupus nephritis // ProcNatlAcadSci U S A. - 2010. – Vol.107. –P. 9813–9818.
33.Heyworth P.G., Cross A.R., Curnutte J.T. Chronic granulomatous disease. Curr. Opin. Immunol., 2003, vol. 15, pp. 578-584.
34.Hofman P. Molecular regulation of neutrophil apoptosis and potential targets for therapeutic strategy against the inflammatory process. Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy, 2004, vol. 3, no. 1, pp. 1-9.
35.Hu X., Li B., Li X. et al. Transmembrane TNF-alpha promotes suppressive activities of myeloid-derived suppressor cells via TNFR// J. Immunol. – 2014. – Vol. 192. – P. 1320–1331
36.Iking-Konert C., Wagner C., Denefleh B. et al. Up-regulation of the dendritic cell marker CD83 on polymorphonuclear neutrophils (PMN): divergent expression in acute bacterial infections and chronic inflammatory disease. Clin. Exp. Immunol., 2002, vol. 130, no. 3, pp. 501-508. doi: 10.1046/j.1365-2249.2002.02008. x.
37.Jhunjhunwala S, Aresta-DaSilva S, Tang K. et al. Neutrophil Responses to Sterile Implant Materials // PLoS One. – 2015. – Vol. 10. - Is. 9. – P. 65–75.
38.Kaplan M. J., Radic M. Neutrophil extracellular traps: double-edged swords of innate immunity. J. Immunol., 2012, vol. 189, no. 6, pp.2689-2695. doi: 10.4049/jimmunol.1201719.
39.Kimberly Martinod K., Wagner D.D.Thrombosis: tangled up in NETs// Blood. - 2014. – Vol. 123, Is. 18. – P. 2768–2776.
40.Kobayashi S.D., De Leo F.R. Role of neutrophils in innate immunity: a systems biology-level approach. Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med., 2009, vol. 1, no. 3,

pp. 309-333. doi:10.1002/wsbm.32.
41.Kolaczkowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation // Nat Rev Immunol. – 2013. – Vol.13. – P. 159–175.
42.Li B., Carey M., Workman J.L. The role of chromatin during transcription. Cell, 2007, vol. 128, no. 4, pp. 707-719. doi: 10.1016/ j. cell. 2007..01.015.
43.Mantovani A., Cassatella M.C., Costantini C., Jaillon S. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. Nat. Rev. Immunol., 2011, vol. 11, no. 8, pp. 519-531. doi: 10.1038/nri3024.
44.Marcos V., Zou Z., Yildrim A.O. et al. CXCR2 mediates NADPH oxidase-independent neutrophil extracellular trap formation in cystic fibrosis airway inflammation. Nat Med, 2010, vol. 16, no. 9, pp. 1018-1023. doi: 10.1038/nm.2209.
45.Maródi L. Innate cellular immune responses in newborns. Clin. Immunol., 2006, vol. 118, no. 2–3, pp. 137–144.
46.Matsushima H., Geng S., Lu R., Okamoto T. et al. Neutrophil differentiation into a unique hybrid population exhibiting dual phenotype and functionality of neutrophils and dendritic cells. Blood, 2013, vol. 121, no. 10, pp. 1677–1689. doi: 10.1182/blood-2012-07-445189.
47.Matzinger P. Friendly and dangerous signals: is the tissue control? Nature Immunol. 2007, vol. 8, pp. 11-13. doi: 10.1038/ni0107-11.
48.McGovern, M., Giannoni, E., Kuester, H. et al. Challenges in developing a consensus definition of neonatal sepsis. Pediatr Res 88, 14–26 (2020). https://doi.org/10.1038/s41390-020-0785-x.
49.Morrison A.J., Shen X. Chromatin remodelling beyond transcription: the INO8O and SWR1 complexes. Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 2009, no. 10, pp. 373-384. doi: 10.1038/nrm2693.
50.Ottonello L., Epstein A.L., Mancini M., Dapino P., Dallegri F. Monoclonal LYM-1 antibody-dependent cytotocsis by human neutrophils exposed to GM-CSF: auto-regulation of target cell attack by catepsin G. J. Leukoc. Biol., 2003, vol. 75, no. 1, pp. 99105. doi: 10.1189/jlb. 040313.
51.Pillay J., Tak T., Kamp V.M., Koenderman L. Immune suppression by neutrophils and granulocytic myeloid-derived suppressor cells: similarities and differences. Cell. Mol. Life Sci., 2013, vol. 70, iss. 20, pp. 3813–3827.
52.Remijsen Q., Kuijpers T.W., Wirawan E. etal. NETosis, mechanisms behind an antimicrobial cell death modality. Cell Death Differ, 2011, vol. 18, pp. 581-588. doi: 10.1038/cdd.2011.1.
53.Rochael N.C, Guimarães-Costa A.B., T. C. Nascimento M.T.C. Classical ROS-dependent and early/rapid ROS-independent release of Neutrophil Extracellular Traps triggered by Leishmania parasites // Sci Rep. – 2015. – Vol. 5. - P.220-233.
54.Smuda C., Wechsler J.B., Bruce P.J. TLR-induced activation of neutrophils promotes histamine production via a P13 kinase dependent mechanism. J. Immunol. Lett., 2011, vol. 141, no. 1, pp. 102-108. doi: 10.116/j.imlet.2011.08.002.
55.Tamassia N., Cassatella M.A. Cytoplasmic receptors recognizing nucleic acids and mediating immune functions in neutrophils. Curr. Opin. Pharmacol, 2013, vol. 13, no. 4, pp. 547-554. doi: 10.1016/j.coph.2013.05.00.
56.Vercauteren D., Piest M., Van der Aa L.J. et al. Flotillin-dependent endocytosis and a phagocytosis -like mechanism for cellular internalization of disulfide-based poly (amido amine)/ DNA polyplexes. Biomaterials, 2011, vol. 32, no. 11, pp. 3072-3084. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.12.045.
57.Wartha F., Beiter K., Albiger B. et al. Capsule and D-alanylated lipoteichoic acids protect Streptococcus pneumoniae against neutrophil extracellular traps. Cell. Microbiol., 2007, vol. 9, no. 5, pp.1162-1171. doi: 10.1111/j.1462-5822.2006.00857.
58.Winterbourn C.C., Kettle A.J. Redox reactions and microbial killing in the neutrophil phagosome. Antioxid. Redox Signal., 2013, vol. 18, no. 6, pp. 642-660. doi: 10.1089/ars.2012.4827.
59.Wynn J.L., Levy O. Role of innate host defense in susceptibility to early-onset neonatal sepsis. Clin.Perinatol., 2010, vol.37, no.2, pp. 307-337. doi: 10.1016/j.clp.2010.04.001.
60.Yang C.W., Strong B.S., Miller M.J., Unanue E.R. Neutrophils influence the level of antigen presentation during the immune response to protein antigens in adjuvants. J. Immunol., 2010, vol. 185, no. 5, pp. 2927-2934. doi: 10.4049/ jimmunol.1001289.
61.Yoshiro Kobayashi. Neutrophil biology: an update // EXCLI J. – 2015. –Vol.14. – P. 220-227.
62.Zhang X., Kluger Y., Nakayama Y. et al. Gene expiession in mature neutrophils: early responses to inflammatory stimuli. J. Leukoc. Biol., 2004, vol. 75, no. 2, pp. 358—372. doi: 10.1189/ jib.0903412.

УДК: 619:614.31
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.49

ВЛИЯНИЕ УРОВНЯ КОМПАРТМЕНТАЛИЗАЦИИ НА ЭКСПОРТНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ РЕГИОНА, В РАЗРЕЗЕ НОВОСИБИРСКОЙ И ТОМСКОЙ ОБЛАСТЕЙ

Сенина М.А.* – асп., каф. ВСЭ БиПБ ИВМиБ; **Кривецкий К.И.** – асп., каф. ВСЭ БиПБ ИВМиБ; **Архипенко Е.В.** – студ., каф. ВСЭ БиПБ ИВМиБ

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный аграрный университет»

*rita.kostyuchenko@mail.ru

Ключевые слова: *компартмент, зоосанитарный, защита, Россельхознадзор, экспорт.*

Keywords: *compartment, zoosanitary, protection, Rosselkhoznadzor, export.*

Поступила: 04.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Формирование уровня зоосанитарной защиты предприятий отражается на присвоении статуса регионализации по особо опасным болезням животных всей страны. Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору обеспечивает безопасность территории РФ от заноса и распространения болезней животных. Присвоение уровня компартментализации предприятию зависит от соблюдения основных норм по содержанию и разведению свиней, а также переработки продукции свиноводства. Присвоение наивысшего уровня компартментализации позволяет предприятию реализовывать продукцию практически без ограничений, как внутри субъекта РФ, так и между субъектами, а также на экспорт. Возникновение вспышек особо опасных заболеваний не только в России, но и во всем мире наносит большой социальный и экономический ущерб. Всемирной организацией здравоохранения животных разрабатываются принципы обеспечения биологической безопасности территории. Проведение профилактических, диагностических и лечебных мероприятий на предприятиях формируют повышение уровня зоосанитарной защиты и обеспечения безопасности распространения заболевания. Тема статьи является новой и актуальной на сегодняшний день, так как уровень компартментализации предприятий региона подтверждает зоосанитарный статус территории. Экспорт мясной продукции с территории области зависит от ряда факторов, в том числе от присвоенного статуса по регионализации. Наращивание экспортного потенциала области зависит от взаимодействия органов власти и предприятий. Выполнение условий стран импортеров является важнейшим принципов экспортных поставок. Многие предприятия лишаются права экспорта лишь из-за формального подхода выполнения требований, которые приводят к выявлению нарушений при подготовке экспортных партий и проведения аттестации предприятия для включения в реестры компартментализации.

ВВЕДЕНИЕ/ INTRODUCTION

Защита территории от заноса и распространения особо опасных болезней животных – это приоритетная задача сразу нескольких органов власти, включая Россельхознадзор, Ветеринарные субъектовые службы и правительство региона. Формирование защищенности зоны зависит от ряда факторов: наличия приграничных территории, имеющих неблагополучный статус, особенности осуществления государственного ветеринарного надзора на территории области, взаимодействия органов власти.

Предприятия, осуществляющие деятельности в сфере производства, хранения, реализации продукции свиноводства несут большие риски при возникновении чрезвычайных ситуаций. Создание плана мероприятий с указанием контрольных точек снижения риска или его наибольшего возникновения позволяет заблаговременно предпринимать меры по ликвидации возникающих угроз. На сегодняшний момент остро встает вопрос с ситуацией в Российской Федерации по африканской чуме свиней. Уже на протяжении второго десятилетия АЧС наносит огромные экономические ущербы предприятиям, личным подсобным хозяйствам и государству в целом. При обнаружении генома АЧС продукция подлежит утилизации в полном объеме, тоже самое происходит с поголовьем при проявлении первых клинических признаков.

Рассмотрение вопроса влияния уровня компартментализации, как наивысшей степени защищенности хозяйства является актуальной темой исследования на сегодняшний день.

Цель исследования – определить уровень компартментализации или экспортный потенциал предприятий по переработке и хранению продукции свиноводства Новосибирской и Томской области.

Научная новизна заключается в рассмотрении влияния статуса региона по инфекционным болезням животных на количество экспортных поставок продукции свиноводства в разрезе Новосибирской и Томской областей. Ранее аналогичных тем рассмотрено не было.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

При подготовке работы использовались общенаучные методы, включающие в себя анализ данных источников литературы, синтез, индукцию и дедукцию, наблюдение. Специальные методы, включающие в себя аналитическое исследование, сравнение, анализ и статистическую обработку. Изучение эпизоотологической обстановки и реестров федеральной государственной информационной системы в области ветеринарии, сбор и обработка статистических данных, полученных в ходе проведения анализа информационных ресурсов Россельхознадзора. В ходе написания статьи проведен анализ основного количества экспортированной свинины с территории Новосибирской и Томской областей и дана оценка связи присвоения уровня компартментализации и экспортного потенциала области.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Зоосанитарный статус (компартмент) – это статус объекта, присвоенный органами Госветслужб на основании проведенного акта аттестации.

Компартментализация – это уровень защиты свиноводческих предприятий от заноса и распространения особо опасных болезней животных.

Определение уровня зоосанитарной защиты зависит от видов животных, содержащихся на объекте, а также от видов подконтрольных товаров, производство и хранение которых осуществляются на объекте. Уровнем зоосанитарной защиты обладают объекты, которые осуществляют деятельность по выращиванию, содержанию и убою свиней, по производству, переработке и хранению продукции свиноводства.

Система определения зоосанитарного статуса предназначена для предотвращения распространения зооантропанозных заболеваний и обеспечением прослеживаемости и ограничения контакта продукции свиноводства с продукцией, полученной от животных других видов. Цель компартментализации – это обеспечение бла-

гополучия эпизоотического состояния субъектов РФ.

В случае возникновения вспышки заболевания, предприятие, имеющее высокий уровень компартмента и не имеющее зарегистрированного случая вспышки на территории содержания, переработки и хранении продукции свиноводства имеет преимущество на реализацию продукции собственного производства, как в пределах субъекта расположения, так и на территории всей страны, избегая экономических убытков предприятия.

В связи с изменяющимся правилами определения зоосанитарного статуса (далее - компартмента) 1 сентября 2023 года вышел обновленный приказ от 11 мая 2023 г № 482 «Об утверждении Ветеринарных правил определения зоосанитарного статуса объектов - земельных участков, зданий, помещений, строений, сооружений, с использованием которых физические и юридические лица осуществляют деятельность по выращиванию, содержанию и убою свиней, по производству, переработке и хранению продукции свиноводства» [2], взамен утратившего силу приказа от 23 июля 2010 г. № 258 «Об утверждении правил определения зоосанитарного статуса свиноводческих хозяйств, а также организаций, осуществляющих убой свиней, переработку и хранение продукции свиноводства».

Для определения статуса компартмента собственник объекта предоставляет заявление в органы исполнительной власти субъектов РФ для присвоения низкого уровня зоосанитарной защиты (I и II уровня), в территориальные органы для присвоения среднего и высокого уровня зоосанитарной защиты (III и IV уровня), в ветеринарные (ветеринарно-санитарные) службы для присвоения любого уровня зоосанитарной защиты [3].

Эпизоотологическое благополучие области или территории определяется всемирным обществом защиты животных (далее – ВОЗЖ). На сегодняшний момент важным критерием подтверждения благополучия территории является учет статусов регионов по заразным болезням животных, размещенный в компонентах федеральной государственной информационной системы в области ветеринарии (далее – ФГИС) «Цербер».

Присвоение III и IV уровней компартмента автоматически снижает критерии риска возникновения и распространения на предприятии заболеваний животных. Формирование и наполнение реестров осуществляется при взаимодействии специалистов государственной ветеринарной службы и Управления Россельхознадзора. Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор) выступает гарантом безопасности перемещаемой продукции [8].

Критерии компартментализации объектов подразделяются на три основных направления:

Объекты, с использованием которых осуществляется деятельность по выращиванию и содержанию свиней.

Объекты, с использованием которых осуществляется деятельность по убою свиней.

Объекты, с использованием которых осуществляется деятельность по производству и переработки продукции свиноводства.

Для уточнения статуса зоосанитарной защиты используется реестр системы ФГИС «Цербер», который включает перечень хозяйствующих субъектов, осуществляющих деятельность по содержанию и разведению свиней, а также убой свиней, переработку и хранение продукции свиноводства на территории РФ. Система отображает актуальную информацию о соответствующем уровне зоосанитарного статуса объекта, номере и дате акта присвоения уровня компартмента [4].

На сегодняшний момент в реестре ФГИС «Цербер» «Компартментализация» размещено 357 предприятий Новосибирской области и 21 предприятие Томской области. Представим данные с указанием уровня компартмента в таблице 1.

Таблица 1 – Количество предприятий, имеющих присвоенный уровень компартмента

Уровень компартмента	Новосибирская область	Томская область
I уровень	312	9
II уровень	0	0
III уровень	30	10
IV уровень	15	2
Всего предприятий	357	21

Как видно из таблицы 1, наиболее распространенный на территории Новосибирской области первый уровень компартментализации, который присваивается автоматически предприятиям, осуществляющим производство, хранение, реализацию продукции свиноводства. Данные предприятия находятся в высокой группе риска и при возникновении вспышек инфекционных заболеваний свиней, в частности классической чумы свиней или африканской чумы свиней, подвергаются более тщательному контролю и проведению дополнительных контрольно-надзорных мероприятий со стороны государственных органов [5].

Второй уровень компартмента, как на территории Новосибирской, так и Томской областей не является распространенными и предприятия с таким уровнем зоосанитарной защиты отсутствуют. Это объясняется тем, что предприятия при первичной регистрации в компонентах ФГИС не предоставляют в органы власти соответствующей информации.

Третий уровень защиты имеют 47 % томских предприятий, что говорит о достаточно высоком уровне ответственности и заинтересованности хозяйствующих субъектов. В основном третий уровень имеют склады и хладокомбинаты, выступающие промежуточными точками между производителями и конечными получателями продукции [7].

Четвертый уровень присвоен крупным агропромышленным комплексам, которые реализуют весь перечень профилактических мероприятий. Можно сказать, что возможность заноса и распространения инфекционных заболеваний на данных предприятиях сводится к нулю. Жесткие требования к персоналу и контрагентами позволяют предприятиям довести риски до минимальных значений, а значит быть уверенными в собственной экономической стабильности, ведь вспышка заболеваний означает полное уничтожение поголовья и продуктов переработки [10].

Не маловажную роль в присвоении благополучного статуса региону играют личные подсобные хозяйства, зачастую нарушающие многие правила по борьбе с болезнями и профилактике их распространения. На сегодняшний момент нет четкого регламента действия при возможном подозрении на обнаружение инфекционного заболевания, так как контрольно-надзорные мероприятия в отношении физических лиц значительно ограничены. В связи с поправками в закон РФ от 14.05.1993 № 4979-1 «О ветеринарии» полномочия по контролю в сфере ветеринарии с государственной ветеринарной службы субъекта были переданы в территориальные управления Россельхознадзора [1].

В связи с большой нагрузкой на штатную численность специалистов Управления Россельхознадзора по Новосибирской и Томской областям (далее – Управления) было принято совместное решение о передаче полномочий по надзору за физическими лицами в государственную ветеринарную службу субъекта. Контроль над физическими лицами осуществляется в специфической форме. Основное затруднение при проведении контрольно-надзорных мероприятий – официальное уведомление контролируемого лица. Сто-

ит отметить, что не все личные подсобные хозяйства зарегистрированы в компонентах ФГИС, а если регистрация все же имеется, то отсутствует актуальная контактная информация.

Большинство вспышек распространения АЧС возникает в личных подсобных хозяйствах и затем распространяется на предприятия. Основным источников переноса вируса является человек.

Вспышек КЧС и АЧС на территории Новосибирской и Томской областей не было, но Новосибирская область признана неблагополучным регионом по ящуру. Томская область имеет статус по яшуру «благополучный регион без вакцинации», что позволяет производителям и экспортерам свободно перемещать свинину, говядину, баранину. Новосибирская область имеет статус по ящуру «благополучный регион (до признания МЭБ) с вакцинацией», что фактически означает неблагополучие региона и значительно отягощает перемещение продукции [6].

Основным требованием при перемещении говядины и баранины из неблагополучной зоны в благополучное является отделение мяса от кости и лимфатических узлов, а так же содержание животных в регионе не менее трех последних месяцев. При этом не допускаются к дальнейшей реализации продукция, полученная от животных проявляющих клинические признаки [9].

Стоит отметить, что предприятия с четвертым уровнем компартмента могут реализовывать свою продукцию даже при смене статуса региона на более низкий практически без ограничений. Реализация продукция между субъектами РФ практически не ограничивается при присвоении статусов компартмента не ниже третьего, что позволяет предприятием обеспечить регион свининой.

Единственной веской экономической преградой для производителей и экспортеров является ограничения вывоза мяса и мясных продуктов на экспорт. Рассмотри данные о количестве экспортированного мяса и мясных продуктов с территории Новосибирской и Томской областей в период 2018-2022 г.

Таблица 2 – Количество экспортированной свинины с территории Новосибирской, Томской областей в период 2018 – 2022 г. (в тоннах)

Год	Новосибирская область	Томская область
2018	0,1	0
2019	124	691
2020	667	643
2021	1362	1717
2022	0	3512

Анализируя таблицу 2 можно сказать, что динамика развития экспортных поставок свинины с территории Томской области носит положительный характер, увеличение составляет в 2022 году по сравнению с 2018 годом в пять раз. Основным направлением для экспортных поставок является Республика Монголия. Томская область в состоянии обеспечить свининой не только собственных потребителей региона, но и значительную долю продукции реализовать в соседние регионы или экспортировать.

Представленные данные на рисунке 1 отражают резкое снижение поставок свинины с территории Новосибирской области. На Рисунке видно, что активный рост наблюдался в период с 2019 по 2021 год включительно, после чего поставки прекратились совсем. Данная динамика связана со сменой региона по ящуру и признанию зоны не благополучной. За активный период вывоза, экспортерами были соблюдены все требования и нареканий к поставляемой продукции от компетентных органов получателей не поступало.

Это говорит о высоком уровне работы предприятий, которые обеспечивают продукцией не только потребителей собственного региона, но и многих других регионов страны. Экспортируемая продукция никак не отличается по качеству от той, которая реализуется на внутреннем рынке.

Экспортеры Новосибирской области имеют соответствующие статусы аттестации и присвоенный четвертый уровень зоосанитарной защиты, но условия ввоза Республики Монголия гласят таким образом, что подтверждается благополучие не конкретного хозяйства, а всей административной территории. Такие ограничения значительно снижают экономическую эффективность предприятия и ограничивают возможных экспортеров в сотрудничестве с предприятиями области.

Считается целесообразным ввести дополнительное определение зоны или подтверждение уровня безопасности для беспрепятственной работы производителей регионов. Экспортный потенциал и привлекательность инвестирования предприятий напрямую отражаются на развитии агропромышленного комплекса региона. Создание и поддержание благополучной зоны зависит не только от контрольно-надзорных органов, но и от самих предприятий в целом.

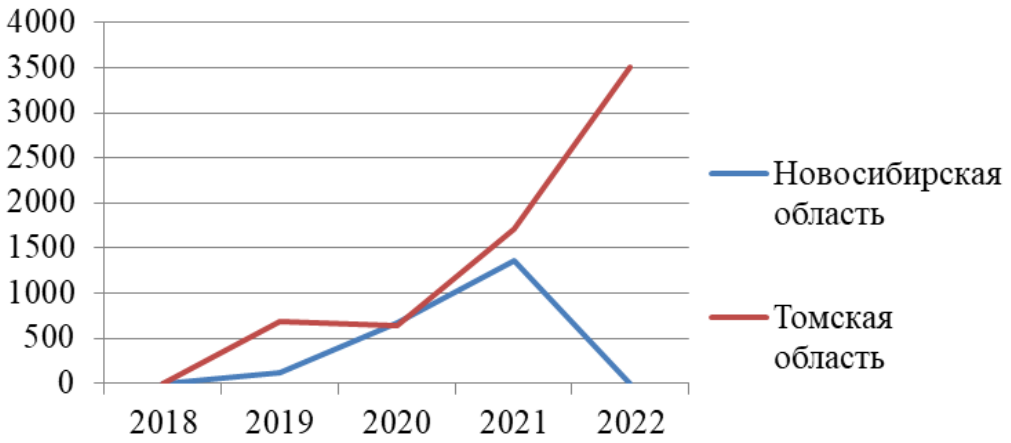


Рисунок 1 – Динамика экспорта свинины в период 2018 – 2022 г.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Из всего вышесказанного можно сделать вывод о том, что в нынешнее время уровень зоосанитарной защиты, установленный на предприятии, может не только предотвратить вспышки различных заболеваний, опасных для человека и животных, и истребление поголовья свиней, но и сохранить экономическое состояние не только субъекта, в котором расположено предприятие, но и страны в целом.

Развитие и поддержание экономической и эпизоотологической обстановки региона отражается во взаимодействии всех представителей процесса. Повешение уровня зооосанитарной защиты в конкретном предприятии и области в целом показывает эффективность работы органов ветеринарной службы. Формирование устойчивого агропромышленного комплекса региона напрямую зависит от ветеринарного благополучия и эффективности профилактических и оздоровительных мероприятий.

THE IMPACT OF THE LEVEL OF COMPARTMENTALIZATION ON THE EXPORT POTENTIAL OF THE REGION, IN THE CONTEXT OF THE NOVOSIBIRSK AND TOMSK REGIONS

Senina M.A* – postgraduate student, kaf. VSE BiPB IVMiB; **Krivetsky K.I.** – postgraduate student, kaf. VSE BiPB IVMiB; **Arkhipenko E.V.** – student, kaf. VSE BiPB IVMiB

Novosibirsk State Agrarian University

*rita.kostyuchenko@mail.ru

ABSTRACT

The formation of the level of zoosanitary protection of enterprises is reflected in the assignment of the status of regionalization for especially dangerous animal diseases throughout the country. The Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance ensures the safety of the territory of the Russian Federation from the introduction and spread of animal diseases. Assigning the level of compartmentalization to an enterprise depends on compliance with the basic standards for the maintenance and breeding of pigs, as well as the processing of pig products. The assignment of the highest level of compartmentalization allows the company to sell products almost without restrictions, both within the subject of the Russian Federation and between subjects, as well as for export. The emergence of outbreaks of particularly dangerous diseases not only in Russia, but also around the world causes great social and economic damage. The World Organization for Animal Health is developing principles for ensuring the biological safety of the territory. Carrying out preventive, diagnostic and therapeutic measures at enterprises form an increase in the level of zoosanitary protection and ensuring the safety of the spread of the disease. The topic of the article is new and relevant today, since the level of compartmentalization of enterprises in the region confirms the zoosanitary status of the territory. The export of meat products from the territory of the region depends on a number of factors, including the assigned status of regionalization. Increasing the export potential of the region depends on the interaction of authorities and enterprises. The fulfillment of the conditions of the importing countries is the most important principle of export supplies. Many enterprises are deprived of the right to export only because of the formal approach of fulfilling the requirements that lead to the identification of violations during the preparation of export shipments and the certification of the enterprise for inclusion in the registers of compartmentalization.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Закон РФ от 14.05.1993 № 4979-1 «О ветеринарии» [Электронный ресурс] / справочная правовая система КонсультантПлюс // Режим доступа: https://www.consultant.ru/document (дата обращения: 25.09.2023)

2.Приказ от 11 мая 2023 г № 482 «Об утверждении Ветеринарных правил определения зоосанитарного статуса объектов - земельных участков, зданий, помещений, строений, сооружений, с использованием которых физические и юридические лица осуществляют деятельность по выращиванию, содержанию и убою свиней, по производству, переработке и хранению продукции свиноводства» [Электронный ресурс] / справочная правовая система КонсультантПлюс // Режим доступа: https://www.consultant.ru/document (дата обращения: 25.09.2023)

3.Приказ Минсельхоза России от 30.06.2017 № 318 «Об утверждении Порядка представления информации в Федеральную государственную информационную систему в области ветеринарии и получения информации из нее» [Электронный ресурс] / справочная правовая система КонсультантПлюс // Режим доступа: https://www.consultant.ru/document (дата обращения: 25.09.2023)

4.Приказ Минсельхоза России от 14.12.2015 № 635 «Об утверждении Ветеринарных правил проведения регионализации территории Российской Федерации» [Электронный ресурс] / справочная правовая система КонсультантПлюс // Режим доступа: https://www.consultant.ru/document (дата обращения: 25.09.2023)

5.Леденева, О. Ю. Реализация риск-ориентированного подхода в деятельности

Управления Россельхознадзора по Новосибирской области при перевозках мяса и мясопродуктов железнодорожным транспортом / О. Ю. Леденева, М. А. Сенина, Л. В. Джураева // Инновации и продовольственная безопасность. – 2022. – № 4(38). – С. 122-130.
6.Сенина, М. А. Влияние изменения статусов регионов по ящуру на транспортировку продукции, подконтрольной государственному ветеринарному надзору, между Новосибирской областью Российской Федерации и Республикой Казахстан / М. А. Сенина, О. Ю. Леденева // Проблемы развития АПК региона. – 2023. – № 2(54). – С. 124-130.
7.Официальный сайт Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор) [Электронный ресурс] – Режим доступа: https://fsvps.gov.ru/fsvps/news (дата обращения: 15.09.2023)
8. Официальный сайт Управления Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор) по Новосибирской и Томской областям [Электронный ресурс] – Режим доступа: 154.fsvps.gov.ru (дата обращения: 15.09.2023)
9.Официальный сайт ФГБУ «Центр Агроаналитики» [Электронный ресурс] – Режим доступа: https://specagro.ru/fgis?ysclid=lmsm9v8bmg420742353 (дата обращения: 15.09.2023)
10.Официальный сайт АО «Российский экспортный центр» [Электронный ресурс] – Режим доступа: https://www.exportcenter.ru/press_center (дата обращения: 15.09.2023)

REFERENCES

1. The Law of the Russian Federation of 14.05.1993 No. 4979-1 "On veterinary medicine" [Electronic resource] / legal reference system ConsultantPlus // Access mode: https://www.consultant.ru/document (accessed: 25.09.2023)
2. Order No. 482 dated May 11, 2023 "On approval of Veterinary rules for determining the zoosanitary status of objects - land plots, buildings, premises, buildings, structures, with the use of which Individuals and legal entities carry out activities for the cultivation, maintenance and slaughter of pigs, for the production, processing and storage of pig products" [Electronic resource] / legal reference system ConsultantPlus // Access mode: https://www.consultant.ru/document (accessed: 25.09.2023)
3. Order of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation No. 318 dated 30.06.2017 "On approval of the Procedure for submitting Information to the Federal State Information System in the field of Veterinary medicine and obtaining information from it" [Electronic resource] / ConsultantPlus legal reference system // Access mode: https://www.consultant.ru/document (accessed: 25.09.2023)
4. Order of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation No. 635 dated 12/14/2015 "On approval of Veterinary Rules for regionalization of the Territory of the Russian Federation" [Electronic resource] / ConsultantPlus legal reference system // Access mode: https://www.consultant.ru/document (accessed: 25.09.2023)
5. Ledeneva, O. Yu. The implementation of a risk-based approach in the activities of the Rosselkhoznadzor Administration for the Novosibirsk region in the transportation of meat and meat products by rail / O. Yu. Ledeneva, M. A. Senina, L. V. Juraeva // Innovation and food security. – 2022. – № 4 (38). – Pp. 122-130.
6. Senina, M. A. The impact of changes in the status of FMD regions on the transportation of products controlled by the state veterinary supervision between the Novosibirsk region of the Russian Federation and the Republic of Kazakhstan / M. A. Senina, O. Yu. Ledeneva // Problems of the development of the agroindustrial complex of the region. – 2023. – № 2(54). – Pp. 124-130.
7. Official website of the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance (Rosselkhoznadzor) [Electronic resource] – Access mode: https://fsvps.gov.ru/fsvps/news (accessed: 09/15/2023)
8. Official website of the Office of the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance (Rosselkhoznadzor) in the Novosibirsk and Tomsk regions [Electronic resource] – Access mode: 154.fsvps.gov.ru (accessed: 09/15/2023)
9. The official website of the Federal State Budgetary Institution "Center for Agroanalytics" [Electronic resource] – Access mode: https://specagro.ru/fgis? ysclid=lmsm9v8bmg420742353 (accessed: 09/15/2023)
10. Official website of JSC "Russian Export Center" [Electronic resource] – Access mode: https://www.exportcenter.ru/press_center (accessed: 09/15/2023)

УДК: 612.423: 611.312:597.765.65
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.57

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ ДЛЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПТИЦЫ «ВИТАСИЛ 2 ПЛЮС»

Джавадов Э.Д. – академик РАН, д-р ветеринар. наук, проф. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана (ORCID 0000-0002-1589-6300), **Новикова О.Б.** – д-р ветеринар. наук, доц. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана (ORCID 0000-0003-0046-625X), **Веретенников В.В.** – канд. ветеринар. наук, асс. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана (ORCID 0000-0001-9648-2259), **Тарлавин Н.В.** - канд. ветеринар. наук, асс. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана (ORCID 0000-0002-6474-9171), **Красков Д.А.** – асп. (ORCID 0000-0002-2362-2641), **Ярыгина Н.А.** * – студ. (ORCID 0009-0007-9625-9971)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*yaryginanatasha@yandex.ru

Ключевые слова: *кормовая добавка, сельскохозяйственная птица, эффективность препарата, сальмонелла энтеритидис, кишечная палочка, синегнойная палочка.*

Key words: *feed additive, poultry, drug effectiveness, Salmonella* Enteritidis*, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa.*

Поступила: 04.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Кормовые добавки на основе органических кислот обладают бактерицидным и бактериостатическим действием, коррелирующим с нормой ввода (дозировкой). Действие препаратов обусловлено нарушением клеточного метаболизма условно-патогенных бактерий и изменением проницаемости их клеточных мембран. Применение препаратов на основе кислот способствует сохранению питательности корма и предотвращению заражения животных и птиц, что является важным аспектом в сохранении продуктивности поголовья. В данной статье рассмотрена эффективность новой кормовой добавки «Витасил 2 Плюс» в отношении микроорганизмов видов *Salmonella* Enteritidis*, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa* при добавлении в воду и различные виды сырья и кормов. В качестве тест-культур были использованы эпизоотические штаммы, выделенные из патологического материала от птиц птицефабрик РФ. Эффективность препарата изучалась в низкой и высокой нормах ввода, зависящих от вида исследуемого субстрата. В качестве субстратов были использованы: питьевая вода, комбикорм гранулированный, россыпь, рыбная мука и соевый шрот. В работе были использованы простые (мясо-пептонный агар), селективные (стафилококковый агар) и дифференциально-диагностические (среда Эндо, ксилоза-лизин-дезоксихолатный агар – XLD-агар) питательные среды. По результатам исследований было установлено, что бактерицидное и бактериостатическое действие кормовой добавки, как правило, коррелируется с высокой и низкой нормой ввода соответственно. Вследствие этого была доказана эффективность комплексного препарата «Витасил 2 Плюс» в отношении ряда микроорганизмов, благодаря чему данная кормовая добавка способна найти применение в обеззараживании кормов и питьевой воды.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Важнейшим показателем эффективности промышленного животноводства и птицеводства является повышение продуктивности, снижение затрат, улучшение качества продукции. Биологическая безопасность производимых продуктов питания становится одним из самых значимых показателей. Для реализации высокого генетического потенциала продуктивности в хозяйствах должны создаваться условия, позволяющие максимально приблизить фактические показатели к заявленному стандарту. В первую очередь это достигается минимизацией влияния неизбежных для промышленных технологий стрессов и неблагоприятных факторов среды. Также одним из условий получения максимальной продуктивности от животных и птицы является хорошее сбалансированное кормление [1].

В современных условиях ведения отечественного животноводства большой экономический ущерб наносят инфекционные болезни, вызываемые условно-патогенными микроорганизмами, т.е. возникающие при снижении резистентности поголовья. Попадание условно-патогенной микрофлоры внутрь организма животных может возникнуть на фоне потребления обсеменённых кормов [2]. Контаминация корма, как правило, происходит за счёт недостаточно эффективной термической обработки сырья, ввиду чего выживает большое количество микроорганизмов, а также из-за возможной порчи продукта, возникающей вследствие нарушения технологии его хранения. Отсюда и вытекает возможность контаминированного корма стать источником инфекций животных. Помимо этого, под воздействием микроорганизмов наблюдается снижение питательной ценности корма. Степень негативного влияния контаминированных кормов зависит от количества бактерий и их видовой принадлежности [3].

Внесение в корм антибиотиков в субклинических дозах создает серьёзные риски возникновения резистентности к противобактериальным препаратам и появления супербактерий. Поэтому отказ от антибиотиков вынуждает искать новые способы борьбы с условными патогенами в корме, в том числе путём применения таких добавок, как органические кислоты [4].

Включение кормовых добавок на основе ряда органических кислот обеспечивает противомикробное воздействие. Во время прохождения желудочно-кишечного тракта кислоты диссоциируют и снижают pH среды, создавая неблагоприятные условия для развития патогенной микрофлоры (в том числе *Salmonella* Enteritidis (*S.*Enteritidis)*, Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*)*, E. coli* (*E.coli*), которые не могут размножаться в кислой среде), благодаря чему сохраняется целостность слизистых пищеварительного тракта [5].

Бактерицидное воздействие органических кислот может также возникнуть в результате накопления анионов внутри клетки. Снижение pH внутри клетки приводит к тому, что в бактериальной клетке подавляется способность к делению. Такой способностью преимущественно обладают кислоты с высокой степенью диссоциации [6]. Кислоты с низкой степенью диссоциации обладают повышенной способностью к образованию солей с калием и натрием, которые входят в состав мембраны клетки, что приводит либо к её разрушению, либо к увеличению проницаемости для кислот с высокой степенью диссоциации. Соответственно, суммарная активность кислот с высокой и низкой степенью диссоциации значительно превосходит их эффект по отдельности.

Постоянный поиск альтернативных антибиотикам препаратов, обладающих выраженной бактерицидной активностью, на данный момент времени является постоянной и необходимой задачей специалистов [7]. Особое внимание производители уделяют разработке и изучению бактерицидной активности, и внедрению в технологический цикл птицеводческих предприятий новых препаратов, поскольку их применение является одним из ведущих факторов снижения количества

применения антибиотиков. Именно поэтому целью нашей работы было исследование эффективности новой кормовой добавки «Витасил 2 Плюс» отечественного производства, имеющей в своём составе муравьиную кислоту, пропионовую кислоту, бензоат натрия и формиат натрия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводили в 2023 году на базе научно-консультационного диагностического центра (НКДЦ) по птицеводству при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» (ФГБОУ ВО СПбГУВМ).

В исследовании было проведено изучение антимикробной активности разных доз препарата «Витасил 2 Плюс» в отношении микроорганизмов видов *S.*Enteritidis, *E. coli*, *P. aeruginosa* при добавлении в воду и разные виды сырья и кормов.

В качестве тест-культур сальмонеллы энтеритидис *S.*Enteritidis, кишечной палочки *E. coli* и синегнойной палочки *P. aeruginosa* были использованы эпизоотические штаммы, выделенные из патологического материала от птиц птицефабрик РФ. Все культуры обладали морфологическими, культуральными, биохимическими, серологическими свойствами, характерными для соответствующего вида.

Вся работа в лабораторных условиях была проведена в соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» (утверждены постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 28 января 2008 г. № 4).

Все работы с микроорганизмами проводили в стерильных условиях, используя бокс микробиологической безопасности БМБ-II-«Ламинар-С»-1, 2 (221.120) класс II (тип А2) (LamSystems, г. Миасс, Челябинская область).

Для инкубирования посевов использовали термостат воздушный лабораторный ХТ-3/40 (производство ЗАО «Пять океанов», Минск).

В работе были использованы простые (мясо-пептонный агар), селективные (стафилококковый агар) и дифференциально-диагностические (среда Эндо, ксилоза-лизин-дезоксихолатный агар – XLD-агар) питательные среды производства НИЦФ (Научно-исследовательский центр фармакотерапии, Санкт-Петербург), ФБУН ГНЦ ПМБ (г. Оболенск, Московская область).

Для определения pH сред использовали pH-метр-милливольтметр pH-410 (ООО «НПО Аквидон», г. Подольск, Московская область). Для взвешивания навесок кормов и питательных сред использовали весы лабораторные (ViBRA Aj-3200CE).

Препарат испытывали при низкой и высокой нормах ввода, конкретная доза зависела от исследуемого вида субстрата.

Вначале изучали эффективность Витасил 2 Плюс при добавлении в питьевую воду в низкой и высокой нормах ввода.

Воду разливали в стерильные стеклянные флаконы в количестве 10 штук по 100 мл в каждый. В три флакона добавляли культуру *S.*Enteritidis, в другие три флакона – *E. coli*, и ещё в три флакона – *P. aeruginosa*. Далее в один флакон с культурой *S.*Enteritidis, один с *E. coli*, и один с *P. aeruginosa* добавляли низкую норму ввода – 0,03 мл препарата (доза 0,3 л/тонну воды). В другие три флакона с культурами *S.*Enteritidis, *E. coli*, *P. aeruginosa* добавляли высокую норму ввода препарата – 0,1 мл (доза 1,0 л/тонну воды). И в три флакона с культурами *S.*Enteritidis, *E. coli*, *P. aeruginosa* препарат не добавляли, а оставляли в качестве контроля роста используемых штаммов микроорганизмов. Один флакон (десятый) был контролем воды, в который не добавляли ни культуру, ни препарат.

Каждую культуру добавляли в виде микробной взвеси, соответствующей по плотности стандарту 0,5 по МакФарланду

в дозе 0,25 мл, что составляет примерно 25 млн КОЕ. Т.к. в первом опыте при добавлении 0,1 мл взвеси не был выявлен рост даже в контроле культур, дозу микроорганизмов увеличили.

Посев культуры и нанесение препарата проводили при помощи дозаторов со стерильными одноразовыми сменными наконечниками и стерильных стеклянных микропипеток. Все флаконы выдерживали при комнатной температуре (~20°С) в течение 24 ч. Через сутки экспозиции из каждого флакона делали высевы на плотные питательные среды для учёта роста колоний культур микроорганизмов – среды Эндо и XLD-агар, а *P. aeruginosa* ещё дополнительно на мясопептонный агар МПА. Посевы проводили стерильными одноразовыми бактериологическими петлями.

Далее изучали эффективность Витасил 2 Плюс при добавлении в комбикорм, гранулированный (для бройлеров) и россыпь (для несушек) в низкой и высокой нормах ввода.

Комбикорм гранулированный и россыпь насыпали в стерильные стеклянные флаконы в количестве 12 штук для каждого вида корма по 100 г в каждый. В три флакона с гранулой и три со россыпью добавляли культуру *S.*Enteritidis, в другие три плюс три флакона – *E. coli*, и ещё в три плюс три флакона – *P. aeruginosa*. Далее в один флакон гранулы и один россыпи с культурой *S.*Enteritidis, один плюс один с *E. coli*, и один плюс один с *P. aeruginosa* добавляли низкую норму ввода – 0,1 мл препарата (доза 1 л/тонну корма). В другие три плюс три флакона с культурами *S.*Enteritidis, *E. coli*, *P.aeruginosa* добавляли высокую дозу препарата – 0,5 мл (доза 5,0 л/тонну корма). И в три плюс три флакона с культурами *S.* Enteritidis, *E. coli*, *P. aeruginosa* препарат не добавляли, а оставляли в качестве контроля роста используемых штаммов микроорганизмов.

Два флакона с гранулой и два флакона с россыпью были контрольные – контроль обеих доз препарата (добавляли соответствующую дозу препарата без культур микроорганизмов) и по одному флакону были контроли гранулы и россыпи, в которые не добавляли ни препарат, ни культуру микроорганизма.

Каждую культуру добавляли в виде микробной взвеси, соответствующей по плотности стандарту 0,5 по МакФарланду в дозе 0,1 мл, что составляет примерно 10 млн КОЕ. Для увеличения объёма взвеси с целью равномерного распределения по всей навеске корма культуру разводили в 1 мл стерильного физиологического раствора.

Инфицирование корма культурами проводили при помощи дозаторов со стерильными одноразовыми сменными наконечниками. Нанесение препарата проводили с использованием распылителя. Корма с препаратом и культурами тщательно перемешивали. Все флаконы выдерживали при комнатной температуре (~20°С) в течение 24 ч. Через сутки из каждого флакона делали высевы на плотные питательные среды для учёта роста колоний культур микроорганизмов – среды Эндо и XLD-агар, а *P. aeruginosa* ещё дополнительно на мясопептонный агар МПА. Посев проб с сальмонеллой и кишечной палочкой на МПА не проводили, т.к. при посеве контрольных (незаражённых) проб корма выявлено наличие микроорганизмов рода *Bacillus*, рост которых угнетается на средах для энтеробактерий. Контрольные пробы (неинфицированные) сеяли дополнительно на стафилококковый агар и мясопептонный агар. Для посева в каждый флакон добавляли по 200 мл стерильного физиологического раствора, тщательно перемешивали и оставляли на несколько часов. Далее стерильными одноразовыми бактериологическими петлями делали высевы из надосадочной жидкости на плотные питательные среды. Чашки с посевами инкубировали в термостате при t 37,0$\pm$0,5°С в течение 24 ч и учитывали результаты роста микроорганизмов.

Затем изучали эффективность Витасил 2 Плюс при добавлении в рыбную муку и соевый шрот в низкой и высокой нормах ввода.

Рыбную муку и соевый шрот насыпали в стерильные стеклянные флаконы в количестве 12 штук для каждого вида корма по 100 г. В три флакона с мукой и три со шротом добавляли культуру *S.* Enteritidis, в другие три плюс три флакона – *E. coli*, и ещё в три плюс три флакона – *P. aeruginosa*. Далее в один флакон муки и один шрота с культурой *S.*Enteritidis, один плюс один с *E coli*, и один плюс один с *P. aeruginosa* добавляли низкую норму ввода – 0,3 мл препарата (доза 3 л/тонну рыбной муки или соевого). В другие три плюс три флакона с культурами *S.*Enteritidis, *E. coli*, *P. aeruginosa* добавляли высокую дозу препарата – 0,8 мл (доза 8,0 л/тонну воды). И в три плюс три флакона с культурами *S.*Enteritidis, *E. coli*, *P. aeruginosa* препарат не добавляли, а оставляли в качестве контроля роста используемых штаммов микроорганизмов.

Два флакона с рыбной мукой и два флакона с соевым шротом были контрольные – контроль обеих доз препарата (добавляли соответствующую дозу препарата без культур микроорганизмов) и по одному флакону были контроли муки и шрота, в которые не добавляли ни препарат, ни культуру микроорганизма.

Каждую культуру добавляли в виде микробной взвеси, соответствующей по плотности стандарту 0,5 по МакФарланду в дозе 0,1 мл, что составляет примерно 10 млн КОЕ. Для увеличения объёма взвеси с целью равномерного распределения по всей навеске корма культуру разводили в 1 мл стерильного физиологического раствора.

Инфицирование кормов культурами проводили при помощи дозаторов со стерильными одноразовыми сменными наконечниками. Нанесение препарата проводили при помощи распылителя. Муку и шрот с препаратом и культурами тщательно перемешивали. Все флаконы выдерживали при комнатной температуре (~20^{o}C) в течение 24 ч. Через сутки из каждого флакона делали высевы на плотные питательные среды для учёта роста колоний культур микроорганизмов – среды Эндо и XLD-агар, а *P. aeruginosa* ещё дополнительно на мясопептонный агар МПА. Для посева в каждый флакон добавляли по 200 мл стерильного физиологического раствора, тщательно перемешивали и оставляли на несколько часов. Далее стерильными одноразовыми бактериологическими петлями делали высевы из надосадочной жидкости на плотные питательные среды. Чашки с посевами инкубировали в термостате при t 37,0±0,5^{o}C в течение 24 ч и учитывали результаты роста микроорганизмов.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

При проведении исследования с питьевой водой, по истечении 24 часов после инкубирования чашек с посевами в термостате, было установлено, что высокая норма ввода препарата в воду полностью подавляет рост микроорганизмов *S.*Enteritidis, *E. coli*, *P. aeruginosa*, т.е. оказывает бактерицидное действие. Низкая доза подавляет рост культур *S.Enteritidis* и *P. aeruginosa* – также бактерицидное действие, и заметно снижает рост колоний культуры *E. coli* (в сравнении с контролем), отмечен рост лишь нескольких колоний кишечной палочки на среде Эндо – бактериостатическое действие (Рисунок 1). В контроле культур был рост колоний микроорганизмов, характерных для каждого исследованного вида. В контроле воды роста ни на одной питательной среде не было, отсюда следует, что вода стерильна.

Результаты представлены в таблице 1.

По результатам исследования, проводимого с комбикормом гранулированным (для бройлеров) и россыпью (для несушек), было установлено следующее: высокая норма ввода препарата в корме гранула полностью подавляет рост микроорганизмов *S.*Enteritidis, *E. coli*, *P. aeruginosa* – бактерицидное действие. Низкая доза подавляет рост культур *S.*Enteritidis и *P. aeruginosa* – также бактерицидное действие, и заметно снижает рост колоний культуры *E. coli* (в сравнении с контролем), отмечен рост единичных колоний кишечной палочки на средах Эндо и XLD -агаре – бактериостатическое действие. В контроле культур был рост колоний мик-

роорганизмов, характерных для каждого исследованного вида (Рисунок 2).

Высокая норма ввода препарата в корме россыпь полностью подавляет рост микроорганизмов *S.*Enteritidis, *E. coli*, *P. aeruginosa* – бактерицидное действие. Низкая доза подавляет рост культур *S.*Enteritidis и *P. aeruginosa* – также бактерицидное действие, и заметно снижает рост колоний культуры *E. coli* (в сравнении с контролем), отмечен рост единичных колоний кишечной палочки на среде Эндо – бактериостатическое действие. В контроле культур был рост колоний микроорганизмов, характерных для каждого исследованного вида (Рисунок 3).

В контрольных (неинфицированных) пробах корма россыпь на средах для селективного выделения и дифференциации энтеробактерий не выявлен рост ни в пробах контроля, ни в обеих опытных. На мясопептонном агаре в контрольной пробе установлен рост большого количества (~2/3 чашки) микроорганизмов рода *Bacillus*. В пробе с низкой нормой ввода препарата отмечен рост лишь одной колонии *Bacillus* – бактериостатическое действие. В пробе с высокой нормой ввода препарата полностью отсутствует рост колоний *Bacillus* – бактерицидное действие.

Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 1 – Результаты изучения эффективности кормовой добавки Витасил 2 Плюс в отношении основных возбудителей бактериальных болезней при добавлении в питьевую воду

Вид возбудителя	Среда	Контроль	Низкая норма (0,3 л/т)	Высокая норма (1,0 л/т)
Salmonella Enteritidis	Эндо	+	–	–
	XLD	+	–	–
Escherichia coli	Эндо	+	+/–	-
	XLD	+	–	–
Pseudomonas aeruginosa	Эндо	+	–	–
	XLD	+	–	–

**Примечание:*
«+» – рост колоний, нет эффекта,
«+/–» – угнетение роста колоний, бактериостатический эффект,
«–» – отсутствие роста колоний, бактерицидный эффект.

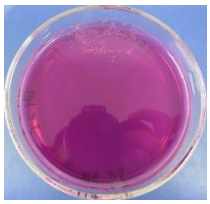
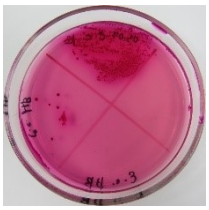
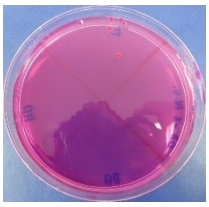
Salmonella Enteritidis	*Escherichia coli*	*Pseudomonas aeruginosa*
		

Рисунок 1 – Рост микроорганизмов, выделенных из заражённой питьевой воды, при различной дозировке препарата на среде Эндо. На каждой чашке по секторам: верхний сектор – контроль без препарата, слева – низкая норма ввода, снизу – высокая норма ввода.

Таблица 2 – Результаты изучения эффективности кормовой добавки Витасил 2 Плюс в отношении основных возбудителей бактериальных болезней при добавлении в комбикорм гранулированный и россыпь

Комбикорм гранулированный				
Вид возбудителя	**Среда**	**Контроль**	**Низкая норма (1,0 л/т)**	**Высокая норма (5,0 л/т)**
Salmonella Enteritidis	Эндо	+	–	–
	XLD	+	-	–
Escherichia coli	Эндо	+	+/–	–
	XLD	+	+/–	–
Pseudomonas aeruginosa	Эндо	+	–	–
	XLD	+	–	–
Корм россыпь				
Вид возбудителя	**Среда**	**Контроль**	**Низкая норма (1,0 л/т)**	**Высокая норма (5,0 л/т)**
Salmonella Enteritidis	Эндо	+	–	–
	XLD	+	–	–
Escherichia coli	Эндо	+	–	–
	XLD	+	–	–
Pseudomonas aeruginosa	Эндо	+	–	–
	XLD	+	–	–

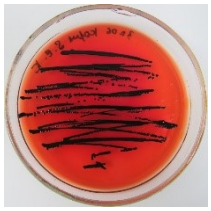
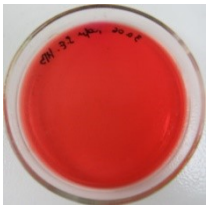
Контроль без препарата	Низкая норма ввода	Высокая норма ввода
		

Рисунок 2 – Рост Salmonella Enteritidis, выделенной из заражённого комбикорма гранулированного, на XLD-агаре при разной дозировке препарата

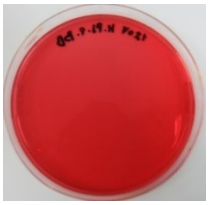
Контроль без препарата	Низкая норма ввода	Высокая норма ввода
		

Рисунок 3 – Рост Pseudomonas aeruginosa, выделенной из заражённого корма россыпи, на XLD-агаре при разной дозировке препарата

Таблица 3 – Результаты изучения эффективности кормовой добавки Витасил 2 Плюс в отношении основных возбудителей бактериальных болезней при добавлении в шрот и рыбную муку

Шрот				
Вид возбудителя	**Среда**	**Контроль**	**Низкая норма (3,0 л/т)**	**Высокая норма (8,0 л/т)**
Salmonella Enteritidis	Эндо	+	–	–
	XLD	+	–	–
Escherichia coli	Эндо	+	–	–
	XLD	+	+/–	–
Pseudomonas aeruginosa	Эндо	+	+/–	–
	XLD	+	+/–	–
Рыбная мука				
Вид возбудителя	**Среда**	**Контроль**	**Низкая норма (3,0 л/т)**	**Высокая норма (8,0 л/т)**
Salmonella Enteritidis	Эндо	+	–	–
	XLD	+	–	–
Escherichia coli	Эндо	+	–	–
	XLD	+	–	–
Pseudomonas aeruginosa	Эндо	+	–	–
	XLD	+	–	–

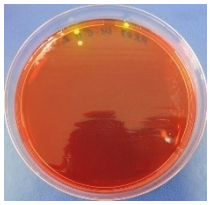
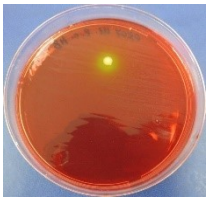
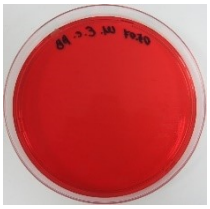
Контроль без препарата	Низкая норма ввода	Высокая норма ввода
		

Рисунок 4 – Рост Escherichia coli, выделенной из заражённого шрота, на XLD-агаре при разной дозировке препарата

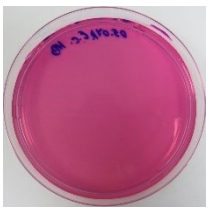
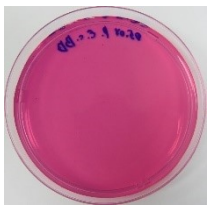
Контроль без препарата	Низкая норма ввода	Высокая норма ввода
		

Рисунок 5 – Рост Escherichia coli, выделенной из заражённой рыбной муки, на среде Эндо при разной дозировке препарата

По результатам исследования рыбной муки было установлено, что как высокая, так и низкая нормы ввода препарата полностью подавляют рост микроорганизмов *S.*Enteritidis, *E. coli*, *P. aeruginosa* – бактерицидное действие. В контроле культур был рост колоний микроорганизмов, характерных для каждого исследованного вида (Рисунок 4).

В контрольных (неинфицированных) пробах рыбной муки на средах для селективного выделения и дифференциации энтеробактерий не выявлен рост ни в пробах контроля, ни в обеих опытных. На мясопептонном агаре и в контрольной, и в обеих опытных пробах установлен рост единичных колоний микроорганизмов рода *Bacillus*.

В соевом шроте высокая норма ввода препарата полностью подавляет рост микроорганизмов *S.*Enteritidis и *P. aeruginosa* – бактерицидное действие. Низкая доза подавляет рост культуры *S.*Enteritidis – также бактерицидное действие, и заметно снижает рост колоний культур *E. coli* (в сравнении с контролем), отмечен рост одной колонии кишечной палочки на XLD-агаре, и культуры *P. aeruginosa*, отмечен рост единичных колоний синегнойной палочки на средах Эндо, XLD-агаре и МПА – бактериостатическое действие (Рисунок 5).

В контрольных (неинфицированных) пробах соевого шрота на средах для селективного выделения и дифференциации энтеробактерий не выявлен рост ни в пробах контроля, ни в обеих опытных. На мясопептонном агаре и в контрольной, и в обеих опытных пробах установлен рост микроорганизмов рода *Bacillus*, однако в пробе с высокой нормой ввода препарата отмечен рост меньшего роста колоний в сравнении с контролем без препарата и низкой дозой – бактериостатическое действие. Результаты исследования на соевом шроте и рыбной муке представлены в таблице 3.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Кормовые добавки на основе органических кислот служат отличной альтернативой антибиотикам ввиду не менее эффективной способности оказывать бактерицидный и бактериостатический эффект. А дополнительное положительное влияние на питательные свойства корма, позволяющее ему лучше усваиваться в организме животных и птиц, служит основным потенциалом для будущей замены антибиотиков как кормовых добавок в принципе. Именно поэтому комплексный препарат «Витасил 2 Плюс», созданный на основе органических кислот, может найти применение в консервации кормового сырья, контроле за патогенными микроорганизмами, а также санации питьевой воды. Как показали наши исследования, даже низкая доза препарата способна оказать бактерицидный эффект против бактерий S.Enteritidis во всех видах исследуемого субстрата. А высокая доза подавила рост всех исследуемых бактерий (S.Enteritidis, E. coli, P. aeruginosa) во всех видах исследуемого корма и сырья. Из всего вышесказанного следует, что данная кормовая добавка обладает бактериостатическим и бактерицидным свойствами, дезинфицирует сырьё и питьевую воду, а это, в свою очередь, помогает обезопасить животных от воздействия условно-патогенной микрофлоры, что является весьма немаловажным фактором при выборе кормовых добавок на агропромышленных производствах.

STUDYING THE EFFECTIVENESS OF THE FEED ADDITIVE “VITASIL 2 PLUS” FOR POULTRY

Javadov E. J. – Academician of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Epizootology named after. V.P. Urbana (ORCID 0000-0002-1589-6300), **Novikova O. B.** – Doctor of Veterinary Sciences, Docent of the Department of Epizootology named after. V.P. Urbana (ORCID 0000-0003-0046-625X), **Veretennikov V. V.** – Ph.D., assistant of the Department of Epizootology named after. V.P. Urbana (ORCID 0000-0001-9648-2259), **Tarlavin N. V.** – Ph.D., assistant of the Department of Epizootology named after. V.P. Urbana (ORCID 0000-0002-6474-9171), **Kraskov D. A.** –

postgraduate (ORCID 0000-0002-2362-2641), **Yarygina N. A.*** – student (ORCID 0009-0007-9625-9971).

FSBEI HE St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*yaryginanatasha@yandex.ru

ABSTRACT

Feed additives based on organic acids have a bactericidal and bacteriostatic effect that correlates with the input rate (dosage). The effect of the drugs is due to a cellular metabolic disorder of opportunistic bacteria and a change in the permeability of their cell membranes. The use of acid-based preparations helps to preserve the nutritional value of feed and prevent infection of animals and birds, which is an important aspect in maintaining the productivity of livestock. This article examines the effectiveness of the new feed additive “Vitasil 2 Plus” against microorganisms of the species Salmonella Enteritidis, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa by adding to water and various types of raw materials and feed.

Epizootic strains isolated from pathological material from birds from poultry farms in the Russian Federation were used as test cultures. The effectiveness of the drug was studied at low and high input rates, depending on the type of substrate being studied. The following substrates were used: drinking water, granulated feed, powder, fish meal and soybean meal. Simple (meat peptone agar), selective (staphylococcal agar) and differential diagnostic (Endo medium, xylose-lysine deoxycholate agar - XLD agar) nutrient media were used in the work.

According to the results, it was found that the bactericidal and bacteriostatic effects of the feed additive, as a rule, correlate with high and low input rates. As a result, the effectiveness of the complex drug “Vitasil 2 Plus” has been proven against a number of microorganisms, thereby this feed additive can be used in the disinfection of feed and drinking water.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Изучение эффективности препарата Теотропин р+ в отношении основных возбудителей бактериальных болезней птиц / Э. Д. Джавадов, О. Ф. Хохлачев, О. Б. Новикова [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2020. – № 3. – С. 76-82. – DOI 10.17238/issn2072-2419.2020.3.76. – EDN DBUHYT.

2.Использование органических кислот в профилактике болезней молодняка крупного рогатого скота / Г.Ф. Макаревич, И.С. Шевченко, В.А. Юркевич [и др.] // Ученые записки учреждения образования "Витебская ордена "Знак почета" государственная академия ветеринарной медицины". — 2019. — № 1. — С. 62-67. — ISSN 2078-0109. — Текст: электронный // Лань: электронно-библиотечная система. — URL: https://e.lanbook.com/journal/issue/310546 — Режим доступа: для авториз. пользователей.

3.Использование современных кормовых добавок в рационах сельскохозяйственной птицы / О. Е. Татьяничева, О. А. Попова, А. П. Хохлова и др. – пос. Майский: ФГБОУ ВО Белгородский ГАУ, 2020. – 203 с.

4.Повышение сохранности поголовья цыплят-бройлеров при применении комплекса дополнительного питания "Пробиоцид®-Ультра" в условиях заражения Clostridium perfringens / Н. В. Тарлавин, В. В. Веретенников, Э. Д. Джавадов [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 4. – С. 24-28. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2021.4.24. – EDN INSTOR.

5.Castro-Vargas R. E. et al. Antibiotic resistance in Salmonella spp. isolated from poultry: A global overview //Veterinary world. – 2020. – Т. 13. – №. 10. – С. 2070.

6.Samad A. Antibiotics resistance in poultry and its solution //Devotion Journal of Community Service. – 2022. – Т. 3. – №. 10. – С. 999-1020.

7.Xu X, Zhou W, Xie C, Zhu Y, Tang W, Zhou X, Xiao H. Airborne bacterial communities in the poultry farm and their relevance with environmental factors and antibiotic resistance genes. Sci Total Environ. 2022 Nov 10;846:157420. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.157420. Epub 2022 Jul 16. PMID: 35850323.

REFERENCES

1. Study of the effectiveness of the drug Teotropin r+ against the main pathogens of bacterial diseases of birds / E. D. Javadov, O. F. Khokhlachev, O. B. Novikova [et al.] // International Veterinary Bulletin. – 2020. – No. 3. – P. 76-82. – DOI 10.17238/issn2072-2419.2020.3.76. – EDN DBUHYT. (In Russ.)
2. Use of organic acids in the prevention of diseases of young cattle / G.F. Makarevich, I.S. Shevchenko, V.A. Yurkevich [and others] // Scientific notes of the educational institution "Vitebsk Order of the Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine". - 2019. - No. 1. - P. 62-67. — ISSN 2078-0109. — Text: electronic // Lan: electronic library system. — URL: https://e.lanbook.com/journal/issue/310546 — Access mode: for authorizations. users. (In Russ.)
3. The use of modern feed additives in the diets of agricultural poultry / O. E. Tatyanicheva, O. A. Popova, A. P. Khokhlova and others - pos. May: Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Belgorod State Agrarian University, 2020. – 203 p. (In Russ.)
4. Increasing the safety of broiler chickens when using the additional nutrition complex "Probiotsid®-Ultra" in conditions of infection with Clostridium perfringens / N. V. Tarlavin, V. V. Veretennikov, E. J. Javadov [et al.] // International Veterinary Bulletin. – 2021. – No. 4. – P. 24-28. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2021.4.24. – EDN INSTOR. (In Russ.)
5. Castro-Vargas R. E. et al. Antibiotic resistance in Salmonella spp. isolated from poultry: A global overview //Veterinary world. – 2020. – T. 13. – No. 10. – P. 2070. (In Eng.)
6. Samad A. Antibiotics resistance in poultry and its solution // Devotion Journal of Community Service. – 2022. – T. 3. – No. 10. – pp. 999-1020. (In Eng.)
7. Xu X, Zhou W, Xie C, Zhu Y, Tang W, Zhou X, Xiao H. Airborne bacterial communities in the poultry farm and their relevance with environmental factors and antibiotic resistance genes. Sci Total Environ. 2022 Nov 10;846:157420. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.157420. Epub 2022 Jul 16. PMID: 35850323. (In Eng.)

УДК: 619:616.99:636.4(470.2)
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.68

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА *CRYPTOSPORIDIUM SCROFARUM* В СВИНОВОДЧЕСКИХ ХОЗЯЙСТВАХ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА РФ

Кряжев А.Л.* – д-р ветеринар. наук, проф. кафедры эпизоотологии и микробиологии (ORCID 0000-0001-7015-8063); **Новиков А.С. –** канд. ветеринар. наук, доц. кафедры внутренних незаразных болезней, хирургии и акушерства. (ORCID 0000-0002-6919-8524)

ФГБОУ ВО Вологодская ГМХА им. Н.В. Верещагина

*kamarnett@mail.tu

Ключевые слова: *криптоспоридиоз, Cryptosporidium scrofarum, ооцисты, ПЦР, ДНК, секвенирование, 18S рРНК, поросята, Вологодская область, Российская Федерация*

Key words: *cryptosporidiosis, Cryptosporidium scrofarum, oocysts, PCR, DNA, sequencing, ASV, amplicon sequence variant, 18S rRNA, piglets, the Vologda region, the Russian Federation*

Финансирование. *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-26-00002, https://rscf.ru/project/22-26-00002/. Молекулярно-генетические исследования выполнены с использованием оборудования с использованием оборудования ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ.*

Поступила: 10.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Криптоспоридиоз – зооноз, имеющий глобальное распространение, вызываемый протистами рода *Cryptosporidium.* К настоящему времени с применением в исследованиях молекулярно-генетических методов идентифицировано 44 вида и 120 генотипов представителей рода *Cryptosporidium.* У свиней выделено тринадцать различных видов/генотипов с доминированием *Cryptosporidium suis* и *Cryptosporidium scrofarum.* В РФ идентификация видов криптоспоридий у поросят при помощи молекулярно-генетических методов ранее не проводилась. Целью данных исследований было выявление, идентификация, анализ и изучение особенностей распространения *Cryptosporidium scrofarum* у свиней в хозяйствах Вологодской области СЗФО РФ. Впервые в РФ на примере Вологодской области СЗФО в свиноводческих хозяйствах различного типа с применением ранее разработанных, а также в результате собственных разработок новейших молекулярно-генетических методик, а именно – NGS секвенирования ампликонов фрагментов гена 18S рРНК, полученных в результате проведения вложенной ПЦР, нами установлено паразитирование *C. scrofarum* у свиней всех возрастных групп. Инвазированность животных, содержащихся в свинокомплексах составила 34%, в фермерских хозяйствах – 32,4%. Наиболее подвержены заражению поросята, находящиеся на откорме в возрасте 13-24 недель.

Анализ таксономической принадлежности ASV проведённый с помощью филогенетического анализа, дополненного анализом с использованием алгоритма blastn в базе данных GenBank, показал, что суммарно во всех исследованных образцах присутствуют 10 ASV-типов (amplicon sequence variant), имеющих высокое сходство с последовательностями, депонированными в GenBank, как фрагменты гена 18S рРНК *Cryptosporidium scrofarum*. Установлено, что типы ASV1 и ASV2, выявляемые в различных географических регионах мира от Португалии и Великобритании до Китая, Индии и Австралии, идентифицированы во всех обследуемых хозяйствах, хотя и в существенно различных количествах. Остальные ASV присутствуют в значительно меньшем количестве и не повторяются от хозяйства к хозяйству. Вероятно, эти последовательности принадлежат местным популяциям подвидов *Cryptosporidium scrofarum.* Интересным представляется обнаружение уникальной последовательности рода *Cryptosporidium* типа ASV8, который в последствии может быть описан как новый вид.

Обнаруженные нами нуклеотидные последовательности являются уникальными. Каждая из них была депонирована в GenBank с присвоением идентификаторов (Sequence ID: OR649139, OR654022, OR654023, OR661243, OR661244, OR654051, OR654052, OR654083, OR654084, OR654106).

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Криптоспоридиоз – болезнь животных и человека, имеющая глобальное распространение, вызываемая простейшими рода *Cryptosporidium* [1, 2, 3, 4 и др.].

У поросят криптоспоридии впервые обнаружены в 1977 г. [5], В России в 1984 г. [6]. В условиях северо-запада РФ криптоспоридии у поросят были выявлены нами [7, 8], изучен ряд вопросов эпизоотологии, клинического проявления, терапии и профилактики данной болезни.

К настоящему времени с применением в исследованиях молекулярно-генетических методов идентифицировано 44 вида и 120 генотипов представителей рода *Cryptosporidium* [9]. У свиней было выделено тринадцать различных видов/ генотипов *Cryptosporidium,* а именно *Cryptosporidium scrofarum* (ранее *Cryptosporidium,* генотип свиньи II)*, Cryptosporidium suis* (ранее *Cryptosporidium, генотип свиньи I), Cryptosporidium muris, Cryptosporidium parvum, Cryptosporidium tyzzeri* (ранее генотип I мыши *Cryptosporidium*)*, Cryptosporidium hominis, Cryptosporidium meleagridis, Cryptosporidium felis, Cryptosporidium andersoni, Cryptosporidium struthioni,* генотип *Cryptosporidium* крысы, *Cryptosporidium sp.* Генотип *Eire w65.5* и неизвестный генотип *Cryptosporidium* из навозной жижи свиней [10, 11, 12, 13]. Более 90% случаев криптоспоридиоза у свиней вызывается видами *Cryptosporidium suis* и *Cryptosporidium scrofarum* [14], также сообщается о потенциальной опасности заражения ими человека [11, 15].

Ранее нами при помощи молекулярно-генетических исследований было проведено изучение таксономической принадлежности криптоспоридий свиней в условиях СЗФО РФ и установлен вид *Cryptosporidium scrofarum* [16].

Целью данных исследований было выявление, идентификация, анализ и изучение особенностей распространения *Cryptosporidium scrofarum* у свиней в хозяйствах Вологодской области СЗФО РФ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Данные исследования в Российской Федерации были выполнены впервые.

Исследования проводились в условиях промышленных свинокомплексов и частных фермерских хозяйств Вологодской области СЗФО РФ с января 2022 по октябрь 2023 г. Фекалии для исследования отбирали от поросят различных возрастов, проводили их первоначальное обследование путем микроскопии окрашенных мазков по методике Циля-Нильсена [17] с целью обнаружения криптоспоридий и установления интенсивности заражения.

Далее пробы замороженные образы проб направляли в г. Пушкин, Санкт-

Петербург для дальнейших исследований. Работа проводилась с использованием оборудования ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ.

Идентификация криптоспоридий до вида в образцах фекалий сельскохозяйственных животных проводилась по ранее разработанной нами методике [16] с помощью двух раундов NGS секвенирования ампликонов фрагментов гена 18S рРНК, полученных в результате проведения nested (вложенной) ПЦР с использованием специализированных методов [18, 19] с последующим демультиплексированием образцов, «деноизинга», объединения последовательностей (перекрытие минимум в 12 нуклеотидов), восстановления исходных филотипов (ASV, (Amplicon sequence variant)) и удаления химерных прочтений [20]. Таксономическая принадлежность последовательностей определялась с помощью blastn в базе данных GenBank [16].

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием компьютерной программы STATISTICA 10.

Всего исследованию подверглись пробы от 650 животных. Таксономическая принадлежность ASV определена при помощи филогенетического анализа 53 проб.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате проведенных исследований представители рода *Cryptosporidium* выявлены у животных всех возрастов. Следует отметить, что они присутствовали как у животных с диареей, так и у поросят без проявления клинических симптомов нарушения пищеварения. Общая инвазированность свиней в свинокомплексах составила 34%, а в частных фермерских хозяйствах – 32,4%. Поросята-сосуны (до 5-недельного возраста) в условиях свинокомплексов были заражены криптоспоридиями в 40% случаев, интенсивность криптоспоридиозной инвазии была преимущественно сильной (+++), встречалась в 20% случаев. Средняя (++) и слабая (+) степени выделения ооцист также имели место в 3% случаев каждая. В фермерских хозяйствах зараженность поросят-сосунов составила 24%, интенсивность выделения ооцист была преимущественно слабой (+), встречалась в 32% случаев. Средняя (++) степень выделения ооцист составила 16% случаев. Поросята-отъемыши (5-12-недельного возраста) в условиях свинокомплексов были инвазированы криптоспоридиями на 33,3%, наиболее часто встречалась сильная (+++) степень криптоспоридиозной инвазии 26,7% против 10 % средней (++) и 3,3% слабой (+). Поросята этой же возрастной группы, содержащиеся в частных фермерских хозяйствах, были заражены криптоспоридиями на 42%, регистрировали преимущественно среднюю (++) степень выделения ооцист, она составила 70% против 14 % слабой (+). Наиболее инвазированы криптоспоридиями поросята-откормочники (13-24 недель), инвазированность этих животных, содержащихся на свинокомплексах составила 60 %. Интенсивность выделения ооцист была преимущественно средней (++) – 26,7% и сильной – 23,3%. В 13,3% случаев встречалась слабая (+) степень инвазии. Инвазированность данной группы поросят, содержащихся в фермерских хозяйствах, составила 72%. Степень выделения ооцист была средней (++) – 42% и слабой (+) – 30%. Животные старше 24 недель в условиях свинокомплексов инвазированы криптоспоридиями в 20% случаев. Степень инвазии у них была средняя (++) – 13,3% и сильная (+++) – 6,7%. Содержащиеся в фермерских хозяйствах поросята данной возрастной группы инвазированы криптоспоридиями на 10%. У них регистрировали слабую (+) – 4 и среднюю (++) – 6% степень криптоспоридиозной инвазии. Свиноматки промышленного способа содержания также инвазированы ооцистами криптоспоридий на 16,7% достаточно слабой (+) степени инвазии. Зараженность криптоспоридиями свиноматок, содержащиеся у фермеров составила 14%, также при слабой (+) степени инвазии (табл. 1).

Таблица 1 – Распространение Cryptosporidium scrofarum среди различных возрастных групп свиней при разных технологиях содержания в условиях Вологодской области

Возрастные группы обследованных животных	Поросята, инвазированные *C. scrofarum* (ЭИ, %)		Интенсивность выделения ооцист (%)					
			слабая +		средняя ++		сильная +++	
	В свинокомплексах	В фермерских хозяйствах	В свинокомплексах	В фермерских хозяйствах	В свинокомплексах	В фермерских хозяйствах	В свинокомплексах	В фермерских хозяйствах
Поросята- сосуны (до 5 недель)	40	24	3	32	3	16	20	–
Поросята-отъемыши (5-12 недель)	33,3	42	3,3	14	10	70	26,7	–
Поросята-откормочники (13 -24 недель)	60	72	13	30	26,7	42	23,3	–
Поросята старше 24 недель	20	10	–	4	13,3	6	6,7	–
Свиноматки	16,7	14	100	100	–	–	–	–
Всего	34	32,4	8,7	18,8	12	26,8	15,3	–

Таким образом нами установлено, что наиболее инвазированы ооцистами криптоспоридий поросята, находящиеся на откорме в возрасте 13-24 недель. Зарубежные же исследователи из Европы [21, 22, 15], Америки [23] и Австралии [24] в большинстве сообщают о наибольшем инвазировании животных 4-12-недельного возраста.

Мы не обнаружили статистически значимых различий в зараженности криптоспоридиями животных при разных технологиях и способах содержания, но в то же время прослеживается определенная закономерность в инвазированности различных возрастных групп (свиньи, принадлежащие к одним возрастным группам при различных технологиях выращивания инвазированы криптоспоридиями в одних и тех же пределах, разница в анализе инвазированности статистически не значима).

Также важным на наш взгляд является тот факт, что зачастую криптоспоридии обнаруживаются у животных всех возрастных групп без каких-либо клинических признаков проявления диареи. Разница между инвазированностью животных с проявлением диареи и без нее является статистически значимой в сторону клинически здоровых животных. Об этом же факте сообщает группа китайских ученых, по результатам математического мета-анализа литературных данных [10]. Таким образом, предполагается актуальность рассмотрения теории об оппортунистической роли криптоспоридий у свиней.

Далее наши исследования показали, что в условиях изучаемого региона у всех животных был идентифицирован единственный вид – *Cryptosporidium scrofarum.* Похожие данные опубликованы учеными из Китая [25]. В то время, как ряд ученых пишут о присутствии у поросят 13 различных видов криптоспоридий [10, 11, 12, 13], однако доминирующими видами во всем мире все же явля-

ются такие как *C. suis* и *C. scrofarum* [14, 10].

Интересно также и то, что мы регистрировали инвазированность поросят-сосунов *C. scrofarum* в то время, как многие авторы из разных стран пишут об инвазированности данным видом криптоспоридий животных более старшего возраста [11, 26, 27, 15]. Однако существуют и другие публикации, свидетельствующие о результатах исследований, совпадающих с нашими [4, 28, 13].

Выявленные нами криптоспоридии у подсосных свиноматок, идентифицированы как *C. scrofarum,* что свидетельствует о прямой роли этих животных в качестве источника возбудителя для поросят-сосунов.

На втором этапе исследований из 53 образцов фекалий свиней, выращиваемых в удалённых друг от друга хозяйствах, была выделена тотальная ДНК, которая использовалась для приготовления библиотек фрагментов гена 18S рРНК с использованием ранее разработанной методики с применением специфических праймеров.

В результате для каждого образца было получено от 20 до 100 тысяч нуклеотидных последовательностей (прочтений), после обработки которых суммарно было выявлено 2372 ASV (amplicon sequence variant).

Анализ таксономической принадлежности ASV проведённый с помощью филогенетического анализа, дополненного анализом с использованием алгоритма blastn в базе данных GenBank, показал, что суммарно во всех исследованных образцах присутствуют только 10 ASV (amplicon sequence variant), имеющих высокое сходство с последовательностями, депонированными в GenBank, как фрагменты гена 18S рРНК *Cryptosporidium scrofarum*. Эти 10 ASV, однако, составляют 40,6 % от всех (944917) прочтений, полученных в результате анализа 53 образцов.

Результаты анализа показали, что только ASV1 и ASV2 полностью идентичны последовательностям присутствующим в GenBank, остальные различаются в разной степени, что, учитывая высокую консервативность гена 18S рРНК, говорит о таксономических различиях между представителями рода *Cryiptosporidium*, выявленных в образцах фекалий. Особенно это касается ASV8, сходство которого с ближайшим родственником рода *Cryptosporidium* составляет всего 91.47%, и может свидетельствовать о довольно удалённом таксономическом родстве, вплоть до нового вида.

Все идентифицированные ASV (ASV1… ASV10), а также несколько последовательностей гена 18S рРНК *Cryptosporidium scrofarum* взятые из GenBank'a (Sequence ID: MT071828, ON14980, KF597533. MN243610, MN243595), были выравнены в программе MEGA с использованием алгоритма Muscle. Установлено, что ASV8 имеет большие количество нуклеотидных замен в последовательности амплифицированного участка гена 18S рРНК по сравнению с другими ASV, а также референсными последовательностями.

Установлено распределение различных ASV-типов *Cryptosporidium scrofarum* в различных свиноводческих хозяйствах с разными технологиями и способами содержания животных, на достаточно удаленном друг от друга расстоянии в разное время. Хорошо видно, что типы ASV1 и ASV2, выявляемые в различных географических регионах мира от Португалии и Великобритании до Китая, Индии и Австралии, идентифицированы во всех хозяйствах, хотя и в существенно разных количествах. Остальные ASV присутствуют в значительно меньшем количестве и не повторяются от хозяйства к хозяйству. Вероятно, эти последовательности принадлежат местным популяциям подвидов *Cryptosporidium scrofarum.*

Также установлен факт постоянной реинвазии животных различными типами ASV криптоспоридий, о чем говорит тот факт, что при исследовании одних и тех же животных в разное время в течение нескольких месяцев, обнаруженные и идентифицированные у них типы ASV не

являлись идентичными.

Интересным для науки представляется обнаружение уникальной последовательности рода *Cryptosporidium* типа ASV8, который в последствии может быть описан как новый вид.

Обнаруженные нами нуклеотидные последовательности являются уникальными. Каждая из них была депонирована в GenBank с присвоением идентификаторов (Sequence ID: OR649139, OR654022, OR654023, OR661243, OR661244, OR654051, OR654052, OR654083, OR654084, OR654106).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Впервые в Российской Федерации, в условиях северо-запада на примере Вологодской области в предприятиях по выращиванию свиней различного типа с использованием новейших молекулярно-генетических методик было установлено паразитирование *C. scrofarum* во всех возрастных группах поросят. Наиболее подвержены инвазии животные в возрасте 13-24 недель. Изучены особенности эпизоотологии данного вида криптоспоридий. Определены местные типы ASV, а также появились предпосылки для последующего описания нового вида рода *Cryptosporidium*.

MOLECULAR CHARACTERISTICS OF *CRYPTOSPORIDIUM SCROFARUM* IN PIG FARMS OF THE VOLOGDA OBLAST OF THE NORTH-WESTERN FEDERAL DISTRICT OF THE RUSSIAN FEDERATION

Kryazhev A.L – Doctor of Veterinary Sciences, Professor of Department of Epizootology and Microbiology (ORCID 0000-0001-7015-8063); **Novikov A.S.** – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of Department of Internal Non-Contagious Diseases, Surgery and Obstetrics, Ph.D (ORCID0000-0002-6919-8524).

FSBE Institution of Higher Education «Vologda State Dairy Farming Academy named after N.V. Vereshchagin»

Funding and acknowledgements: *The study was carried out at the expense of a grant from the Russian Science Foundation No. 22-26-00002, https://rscf.ru/project/22-26-00002/. The study was carried out using the equipment of the resource center «Genomic Technologies, Proteomics and Cell Biology» of ARRIAM.*

ABSTRACT

The purpose of these studies was to identify, identify, analyze and study the distribution of *Cryptosporidium scrofarum* in pigs in the farms of the Vologda Region of the Northwestern Federal District of the Russian Federation.

For the first time in the Russian Federation, using the example of the Vologda Oblast of the Northwestern Federal District in pig farms of various types using the latest molecular genetic methods, namely using high-throughput sequencing of amplicon libraries of fragments of the 18S rRNA gene obtained because of nested PCR, we have established the infection of *C. scrofarum* in all age groups of examined animals. The contamination of animals kept in pig farms was 34%, in farms - 32.4%. Animals that are fattened at the age of 13-24 weeks are most susceptible to infection.

Analysis of ASV taxonomic affiliation using phylogenetic analysis, supplemented by analysis using the blastn algorithm in the GenBank database, showed that a total of 10 ASV types (amplicon sequence variant) are present in all tested samples, which have high similarity to sequences deposited in GenBank as fragments of the 18S p gene *Cryptosporidium scrofarum* RNA. It has been established that the types of ASV1 and ASV2 detected in various geographical regions of the world from Portugal and Great Britain to China, India and Australia are identified in all examined farms, although in significantly different quantities. The remaining ASVs are present in much smaller numbers and do not repeat from farm to farm. These sequences probably belong to local populations of subspecies *Cryptosporidium scrofarum*. It is interesting to find a unique sequence of the genus *Cryptosporidium* of type ASV8, which can later be described as a new species.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Snelling, W. J. Cryptosporidiosis in developing countries / W. J. Snelling, L. Xiao, G. Ortega-Pierres, C. J. Lowery, J. E. Moore, J. R. Rao, & J. S. Dooley // The Journal of Infection in Developing Countries. – 2007. – Vol. 1(03). – P. 242-256. – DOI 10.3855/jidc.360

2.Kotloff, K.L. Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): a prospective, case-control study / K.L. Kotloff, J.P. Nataro, W.C. Blackwelder, D. Nasrin, T.H. Farag, S. Panchalingam,... & M.M. Levine // The Lancet. – 2013. – Vol. 382 (9888). – P. 209-222. – DOI 10.1016/S0140-6736(13)60844-2

3.Striepen, B. Parasitic infections: time to tackle cryptosporidiosis / B. Striepen // Nature News. – 2013. – Vol. 503(7475). – P. 189-191. – DOI 10.1038/503189a

4.Wang, R. Prevalence and molecular identification of Cryptosporidium spp. / R. Wang, S. Qiu, F. Jian, S. Zhang, Y. Shen, L. Zhang, C. Ning, J. Cao, M. Qi, L. Xiao // Parasitol Res. – 2010. – Vol. 107. – P. 1489-1494. – DOI 10.1007/s00436-010-2024-6

5.Kennedy, G. A. Cryptosporidiosis in three pigs / G.A. Kennedy, G.L. Kreitner, A.C. Strafuss //Journal of the American Veterinary Medical Association. – 1977. – Т. 170. – №. 3. – С. 348-350.

6.Горбов, Ю.К. Распространение ассоциативных заболеваний с/х животных и опыт борьбы с ними в Мордовской АССР / Ю.К. Горбов, А.П. Мачинский // Паразитоценозы и ассоциативные болезни. М., – 1984. – С. 235-252.

7.Кряжев, А.Л. Эпизоотологическая ситуация по криптоспоридиозу поросят в промышленном свиноводстве Вологодской области / А.Л. Кряжев, А.С. Новиков, В.Ф. Никитин. // Ветеринария. – 2020. – №1. – С. 30-34. – DOI 10.30896/0042-4846.2020.23.1.30-34

8.Новиков, А.С. Криптоспоридиоз поросят в условиях северо-западного Нечерноземья РФ / А.С. Новиков, А.Л. Кряжев // Монография // Вологда–Молочное: Вологодская ГМХА. – 2022. – 112 с.

9.Ryan, U.M. Taxonomy and molecular epidemiology of Cryptosporidium and Giardia–a 50-year perspective (1971–2021) / U.M. Ryan, Y. Feng, R. Fayer, L. Xiao // International Journal for Parasitology. – 2021. – Т. 51. – №. 13-14. – С. 1099-1119. – DOI 10.1016/j.ijpara.2021.08.007

10.Chen, Y. Global prevalence of Cryptosporidium spp. in pigs: a systematic review and meta-analysis / Y. Chen, H. Qin, Y. Wu, H. Xu, J. Huang, J. Li, L. Zhang // Parasitology. – 2023. – С. 1-38 – DOI 10.1017/S0031182023000276

11.Němejc, K. Occurrence of Cryptosporidium suis and Cryptosporidium scrofarum on commercial swine farms in the Czech Republic and its associations with age and husbandry practices / K. Němejc, B. Sak, D. Květoňová, N. Kernerová, M. Rost, V.A. Cama, M. Kváč // Parasitology research. – 2013. – Vol. 112(3). – P. 1143-1154. – DOI 10.1007/s00436-012-3244-8

12.Wang, W. Prevalence of Cryptosporidium in pigs in China: A systematic review and meta-analysis / Wang W., Gong Q. L., Zeng A., Li M. H., Zhao Q., & Ni H. B. // Transboundary and Emerging Diseases. – 2021. – Т. 68. – №. 3. – С. 1400-1413. – DOI 10.1111/tbed.13806

13.Wang, P. The infection and molecular characterization of Cryptosporidium spp. in diarrheic pigs in southern China / P. Wang, S. Li, Y. Zou, Z.C. Du, D. P. Song, P. Wang, X.Q. Chen // Microbial Pathogenesis. – 2022. – Т. 165. – С. 105459. – DOI 10.1016/j.micpath.2022.105459

14.Feng, Y. Genetic diversity and population structure of Cryptosporidium / Y. Feng, U.M. Ryan, L. Xiao // Trends in parasitology. – 2018. – Т. 34. – №. 11. – С. 997-1011. – DOI 10.1016/j.pt.2018.07.009

15.Pettersson, E. Detection and molecular characterisation of Cryptosporidium spp. in Swedish pigs / E. Pettersson, H. Ahola, J. Frössling, P. Wallgren, K. Troell // Acta Veterinaria Scandinavica. – 2020. – Vol. 62 (1). – P. 1-7. – DOI 10.1186/s13028-020-00537-z

16.Кряжев, А.Л. Идентификация таксономической принадлежности криптоспоридий у поросят в условиях северо-запада

РФ при помощи молекулярно-генетических методов / А.Л. Кряжев, А.С. Новиков // Российский паразитологический журнал. – 2023. – Т. 17. – №. 1. – С. 84-90. – DOI 10.31016/1998-8435-2023-17-1-84-90
17.Pavlásek, I. Cryptosporidia: biology, diagnosis, host spectrum, specificity, and the environment / I. Pavlásek //Remedia Klin. Mikrobiol. – 1999. – Vol. 3. – P. 290-301.
18.Rahimah, A. B. Freeze-drying of oil palm (Elaeis guineensis) leaf and its effect on the quality of extractable DNA / A.B. Rahimah, S.C. Cheah, S. Rajinder // J. Oil Palm Res. – 2006. – Vol. 18. – P. 296-304.
19.Zheng, S. Molecular identification and epidemiological comparison of Cryptosporidium spp. among different pig breeds in Tibet and Henan, China / S. Zheng, D. Li, C. Zhou, S. Zhang, Y. Wu, Y. Chang, ... & L. Zhang // BMC veterinary research. – 2019. – Vol. 15. – №. 1. – P. 1-8. – DOI 10.1186/s12917-019-1847-3
20.Callahan, B.J. H. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data / B.J. Callahan, P.J. McMurdie, M.J. Rosen, A.W. Han, A.J.A. Johnson, S.P. Holmes // Nature methods. – 2016. – 13. – P. 581-583. – DOI 10.1038/nmeth.3869
21.Maddox-Hyttel, C. Cryptosporidium and Giardia in different age groups of Danish cattle and pigs-Occurrence and management associated risk factors / C. Maddox-Hyttel, R. Langkjær, H. Enemark, H. Vigre // Vet Parasitol. – 2006. – Vol. 141. – P. 48-59. – DOI 10.1016/j.vetpar.2006.04.032
22.Hamnes, I. Occurrence of Cryptosporidium and Giardia in suckling piglets in Norway / I. Hamnes, B. Gjerde, T. Forberg, L. Robertson // Vet Parasitol. – 2007. – Vol. 144. – P. 222-33. – DOI 10.1016/j.vetpar.2006.10.011
23.Guselle, N. Biology of Cryptosporidium parvum in pigs: from weaning to market / N. Guselle, A. Appelbee, M. Olson // Vet Parasitol. – 2003. – Vol. 113(1). – P. 7-18. – DOI 10.1016/S0304-4017(03)00039-6
24.Johnson, J. Prevalence of Cryptosporidium genotypes in pre- and post-weaned pigs in Australia / J. Johnson, R. Buddle, S. Reid, A. Armson, U. Ryan // Exp Parasitol. – 2008. – Vol. 119. – P. 418-421. – DOI 10.1016/j.exppara.2008.04.009
25.Zou, Y. Prevalence and risk factors of Cryptosporidium infection in farmed pigs in Zhejiang, Guangdong, and Yunnan provinces, China / Y. Zou, J.G. Ma, D.M. Yue, W.B. Zheng, X.X. Zhang, Q. Zhao, X.Q. Zhu // Tropical animal health and production. – 2017. – Vol. 49(3). – P. 653-657. – DOI 10.1007/s11250-017-1230-y
26.Yin, J. H. Age-related Infection with Cryptosporidium Species and Genotype in Pigs in China[J]. / J.H. Yin, Z.Y. Yuan, H.X. Cai, Y.J. Shen, Y.Y. Jiang, J. Zhang, Y.J. Wang, J.P. Cao //Biomedical and Environmental Sciences. – 2013. –Vol. 26(6). – P. 492-495. – DOI 10.3967/0895-3988.2013.06.010
27.Kváč, M. Age related susceptibility of pigs to Cryptosporidium scrofarum infection / M. Kváč, K. Němejc, M. Kestřánová, D. Květoňová, P. Wagnerová, M. Kotková, M. Rost et al. // Vet Parasitol. – 2014. – Vol. 202(3-4). – P. 330-334. – DOI 10.1016/j.vetpar.2014.02.012
28.Zhang, W. Prevalence and genetic characterizations of Cryptosporidium spp in preweaned and post-weaned piglets in Heilongjiang Province, China / W. Zhang, F. Yang, A. Liu, R. Wang, L. Zhang, Y. Shen et al. // PLoS One. – 2013. – Vol. 8. – P. e67564. – DOI 10.1371/journal.pone.0067564

REFERENCES

1.Snelling WJ, Xiao L, Ortega-Pierres G, Lowery CJ, Moore JE, Rao JR, Dooley JS. Cryptosporidiosis in developing countries. The Journal of Infection in Developing Countries. 2007;1(03):242-256. doi:10.3855/jidc.360
2.Kotloff KL, Nataro JP, Blackwelder WC, Nasrin D, Farag TH, Panchalingam S, Levine MM. Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): a prospective, case-control study. The Lancet. 2013;382 (9888):209-222. doi:10.1016/S0140-6736 (13)60844-2

3.Striepen B. Parasitic infections: time to tackle cryptosporidiosis. Nature News. 2013;503(7475):189-191. doi:10.1038/503189a
4.Wang R, Qiu S, Jian F, Zhang S, Shen Y, Zhang L, Ning C, Cao J, Qi M, Xiao L. Prevalence and molecular identification of Cryptosporidium spp. Parasitol Res. 2010; 107: 1489-1494. doi:10.1007/s00436-010-2024-6
5.Kennedy GA, Kreitner GL, Strafuss AC. Cryptosporidiosis in three pigs. Journal of the American Veterinary Medical Association. 1977 Feb;170(3):348-350. PMID: 833036.
6.Gorbov YuK, Machinsky AP. The spread of associative diseases of agricultural animals and the experience of combating them in the Mordovian Autonomous Soviet Socialist Republic Parasitocenoses and associative diseases. M., 1984;235-252 [in Russ.]
7.Kryazhev AL, Novikov AS, Nikitin VF. Epizootological situation on cryptosporidiosis of piglets in industrial pig breeding in the Vologda region. Veterinary. 2020; 1:30-34. doi:10.30896/0042-4846.2020.23.1.30-34 [in Russ.]
8.Novikov AS, Kryazhev AL. Cryptosporidiosis of piglets in the conditions of the northwestern non-Chernozem region of the Russian Federation. Monograph Vologda-Molochnoe: Vologda GMHA. 2022;112. [in Russ.]
9.Ryan UM, Feng Y, Fayer R, Xiao L. Taxonomy and molecular epidemiology of Cryptosporidium and Giardia - a 50-year perspective (1971-2021). Int J Parasitol. 2021 Dec;51(13-14):1099-1119. doi: 10.1016/j.ijpara.2021.08.007.
10.Chen Y, Qin H, Wu Y, et al. Global prevalence of Cryptosporidium spp. in pigs: a systematic review and meta-analysis. Parasitology. 2023;150(6):531-544. doi:10.1017/S0031182023000276
11.Němejc K, Sak B, Květoňová D, Kernerová N, Rost M, Cama VA, Kváč M. Occurrence of Cryptosporidium suis and Cryptosporidium scrofarum on commercial swine farms in the Czech Republic and its associations with age and husbandry practices. Parasitology research. 2013;112(3):1143-1154. doi:10.1007/s00436-012-3244-8
12.Wang W, Gong QL, Zeng A, et al. Prevalence of Cryptosporidium in pigs in China: A systematic review and meta-analysis. Transboundary and Emerging Diseases. 2021 May;68(3): 1400-1413.doi:10.1111/tbed.13806
13.Wang P, Li S, Zou Y, et al. The infection and molecular characterization of Cryptosporidium spp. in diarrheic pigs in southern China. Microbial Pathogenesis. 2022 Apr; 165:105459. doi: 10.1016/j.micpath.2022.105459
14.Feng Y, Ryan UM, Xiao L. Genetic Diversity and Population Structure of Cryptosporidium. Trends in Parasitology. 2018 Nov;34(11):997-1011. doi:10.1016/j.pt.2018.07.009.
15.Pettersson E, Ahola H, Frössling J, Wallgren P, Troell K. Detection and molecular characterisation of Cryptosporidium spp. in Swedish pigs. Acta Veterinaria Scandinavica. 2020; 62(1):1-7. doi:10.1186/s13028-020-00537-z
16.Kryazhev AL, Novikov AS, Identification of the taxonomic affiliation of cryptosporidium in piglets in the north-west of the Russian Federation using molecular genetic methods. Russian Journal of Parasitology. 2023; 17(1):84-90. doi:10.31016/1998-8435-2023-17-1-84-90 [in Russ.]
17.Pavlásek I. Cryptosporidia: biology, diagnosis, host spectrum, specificity, and the environment Remedia Klin. Mikrobiol. 1999; 3: 290-301.
18.Rahimah AB, Cheah SC, Rajinder S. Freeze-drying of oil palm (Elaeis guineensis) leaf and its effect on the quality of extractable DNA. J. Oil Palm Res. 2006; 18: 296-304.
19.Zheng S, Li D, Zhou C, Zhang S, Wu Y, Chang Y, Zhang L. Molecular identification and epidemiological comparison of Cryptosporidium spp. among different pig breeds in Tibet and Henan, China. BMC veterinary research. 2019; 15(1):1-8. doi:10.1186/s12917-019-1847-3
20.Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, et al. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. Nature Methods. 2016 Jul;13(7):581-583.

doi:10.1038/nmeth.3869.
21.Maddox-Hyttel C, Langkjær R, Enemark H, Vigre H. Cryptosporidium and Giardia in different age groups of Danish cattle and pigs-Occurrence and management associated risk factors. Vet Parasitol. 2006; 141:48-59. doi: 10.1016/j.vetpar.2006.04.032
22.Hamnes I, Gjerde B, Forberg T, Robertson L. Occurrence of Cryptosporidium and Giardia in suckling piglets in Norway. Vet Parasitol. 2007;144: 222-33. doi: 10.1016/j.vetpar.2006.10.011
23.Guselle N, Appelbee A, Olson M. Biology of Cryptosporidium parvum in pigs: from weaning to market. Vet Parasitol. 2003;113 (1):7-18. doi:10.1016/S0304-4017(03)00039-6
24.Johnson J, Buddle R, Reid S, Armson A, Ryan U. Prevalence of Cryptosporidium genotypes in pre- and post-weaned pigs in Australia. Exp Parasitol. 2008; 119: 418-421. doi: 10.1016/j.exppara.2008.04.009
25.Zou Y, Ma JG, Yue DM, Zheng, WB, Zhang XX, Zhao Q, Zhu XQ. Prevalence and risk factors of Cryptosporidium infection in farmed pigs in Zhejiang, Guangdong, and Yunnan provinces, China. Tropical animal health and production. 2017; 49(3):653-657. doi:10.1007/s11250-017-1230-y
26.Yin JH, Yuan ZY, Cai HX, Shen YJ, Jiang YY, Zhang J, Wang YJ, Cao JP. Age-related infection with Cryptosporidium species and genotype in pigs in China. Biomed Environ Sci. 2013 Jun;26(6):492-5. doi: 10.3967/0895-3988.2013.06.010.
27.Kváč M, Němejc K, Kestřánová M, Květoňová D, Wagnerová P, Kotková M, Rost M, et al. Age-related susceptibility of pigs to Cryptosporidium scrofarum infection. Vet Parasitol. 2014;202(3-4):330-334. doi: 10.1016/j.vetpar.2014.02.012
28.Zhang W, Yang F, Liu A, Wang R, Zhang L, Shen Y, et al. Prevalence and genetic characterizations of Cryptosporidium spp in pre-weaned and post-weaned piglets in Heilongjiang Province, China. PLoS One. 2013;8:e67564. doi: 10.1371/journal.pone.0067564

УДК: 579.62/632.938: 612.342.51:615.015.23
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.78

ОЦЕНКА IN VITRO ПРОБИОТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ И БАКТЕРИОЦИНОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ L. ACIDOPHILUS 13, E. FAECIUM К-50 И ИХ КОМПОЗИЦИИ

Живодерова А.И.[1] – асп. баз. каф. эпизоотологии и микробиологии, **Самойленко В.С.**[2*] – канд. ветеринар. наук, зав. кафедрой зоологии и паразитологии медико-биологического факультета.

[1]ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет»
[2]ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»

*viktor_samoylenko_26@mail.ru

Ключевые слова: *микробиота кишечника, иммунитет, пробиотики, лактобактерии, энтеробактерии, кислоты солей желчи, антагонистическая активность.*
Key words: *intestinal microbiota, immunity, probiotics, lactobacilli, enterobacteria, acids of bile salts, antagonistic activity.*

Поступила: 15.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ
Известно, что микробиота кишечника играет центральную роль в здоровье и потологии животного, и соответственно имеет значения для научных исследований. Микроорганизмы рода Lactobacllus имеют широкое распространение в природе и считаются представителями микрофлоры макроорганизма животного. Lactobacllus acidophilus широко применяется как пробиотик, и известна своим имуностимулирующим действием, она заселяет кишечник новорожденного и сопровождает животного на протяжении всей его жизни. Enterococcus faecium, так же используется как пробиотик, за счет своей высокой антагонистической активности в отношении патогенной микробиоты, а также учувствует в формировании и поддержании иммунитета. Целью данного исследования явилось оценка пробиотической составляющей L. acidophilus 13, E. faecium к-50 в условиях, имитирующих желудочно-кишечный тракт, изучение бактериоциногенного потенциала и антагонистических свойств лактобактерий и энетерококков и их композиции. В исследовании были использованы пробиотические культуры микроорганизмов, полученные из ВКПМ НИЦ «Курчатовский институт» – ГосНИИгенетика. Было показано, что используемые нами штаммы в композиции способствовали положительной динамике их развития, и в то же время понижали содержание патогенных бактерий, таких как Escherichia coli K-12 J53, Staphylococcus aureus ATTCC 6538P(тест-штаммы). Нами были рассмотрены последние достижения в понимании бактериальных механизмов, участвующих в толерантности к желчи. Исследование показало существенное влияние пробиотических бактерий и их композиции на кислоты солей желчи и их выживание в условия повышенной кислотности. В связи с вышеизложенным определяется целесообразность комплексных исследований пробиотических микроорганизмов, для разработки средств на их основе.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Желудочно-кишечный тракт организма животного представляет собой обширный ареал обитания микрофлоры в организме. Было изучено и установлено, что микробиота кишечника животного имеет эволюционно сложившуюся совокупность микроорганизмов, в которой симбионтая микрофлора находится в равновесии, образует микробные ассоциации, которые относятся к важнейшим факторам, влияющим на здоровье и продуктивность [13,15,18,19].

Лактобациллы являются на сегодняшний день наиболее важными пробиотическими бактериями микробиоты кишечника. Их положительные функции отмечаются в участии созревания иммунной системы организма, а также включают в себя конкуренцию и антагонизм по отношению к условно-патогенным микроорганизмам [2,17].

Активность энетеробактерий отмечается в отношении патогенной микробиоты, противовоспалительных свойствах, витаминообразовании, иммуномодулирующих свойствах. Желудочно-кишечные болезни молодняка крупного рогатого скота, особенно в период новорожденности играют значимую роль для животноводства, так как от этого зависит иммунологический и физиологический статус. Вследствие несбалансированного кормления и нарушения обменных процессов в организме матери, зачастую рождается ослабленный нежизнеспособный приплод с несформировавшейся системой защиты. На фоне этого к такому организму в дальнейшем прикрепляется инфекционный агент, который в большинстве случаев носит инфекционный характер. Для этого требуется активация иммунных процессов посредством пробиотиков которая в свою очередь осуществляется увеличением уровня активности комплемента и стимуляции лимфоидного комплекса [6,1,7,10, 5,14,16].

В настоящее время, актуальной стала проблема для специалистов ветеринарной службы о необходимости ранней профилактики животных в период новорожденности, с использованием для этого пробиотических комплексов с целью урегулирования иммунитета и микробиоценоза при лечении инфекционных заболеваний, непосредственно поражающих желудочно-кишечный тракт [8,5].

Прежде всего, пробиотические штаммы, которые рассматриваются в процессе разработки синбиотической формулы должны соответствовать «Критериям и требованиям отбора пробиотических и пребиотических штаммов». При составлении синбиотической формулы решающее значение будет иметь выбор пробиотиков, которые будут оказывать благотворное влияние на здоровье животного при раздельном использовании. Определение состава синбиотической формулы – чрезвычайно сложная задача, которую предстоит исследовать [9].

Комплексные пробиотические средства обеспечивают лучшую эффективность и несет за собой увеличение количества полезных микроорганизмов, усиление иммунного ответа за счет входящего в состав пребиотического компонента, который усиливает действие пробиотика на организм животного [4,3,10,11,12].

К настоящему времени имеющиеся исследований явно указывают на оптимизированное действие пробиотиков, которые оказывают сокращение бактериальных патогенов желудочно-кишечного тракта. Следующим образом выявлено, что вопрос о действии и влиянии пробиотических средств на здоровье животных недостаточно изучен, особенно в период новорожденности, что требует дальнейших научных исследований и апробаций.

Цель работы: изучить пробиотические свойства, бактериоциногенный потенциал, влияние кислот солей желчи и антагонистическую направленность штаммов микроорганизмов Lactobacillus acidophilus 13, Enterococcus faecium K-50 и их композиции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования по определению антагонистической направленности, пробиотических свойств и устойчивости к кисло-

там солей желчи проводили в научно-испытательной лаборатории базовой кафедры эпизоотологии и микробиологии института ветеринарии и биотехнологий ФГБОУ ВО «Ставропольский ГАУ».

В качестве объектов исследования нами были использованы чистые пробиотические культуры штамма Lactobacillus acidophilus 13 ВКПМ В-2585 и штамма Enterococcus faecium К-50 ВКПМ В-2579. В качестве тест-культур были подобраны основные представители условно-патогенных микроорганизмов Staphylococcus aureus ATTCC 6538P и Escherichia coli K-12 J53 депонированные ГосНИИгенетика «Курчатовский институт».

Оценку чувствительности штаммов к антибиотикам проводили согласно МУ 2.3.2.2789 – 10. Для этого использовали агаризованную питательную среду среду МПА, которую вносили 20 мл на стерильную поверхность чашки Петри, в стерильной зоне. Далее охлаждали и ждали полного застывания. Из тестируемых пробиотических штаммов микроорганизмов L. acidophilus 13, E. faecium К-50 и их композиции готовили суспензии, соответствующие по плотности оптическому стандарту мутности на 5 ед. (с содержанием микробных клеток около $1,5 – 5 \times 10^9$ КОЕ/мл). Затем производили засев суспензии из исследуемых культур. Далее диски с антимикробным препаратом наносили по 5 штук на поверхность агара через 15-20 минут после его инокуляции суспензией. Чашки петри помещали в термостат и инкубировали при температуре 37°С в течении 18-24 часов, после чего производили замеры зон задержки роста.

Бактериоциногенный потенциал штаммов микроорганизмов определяли методом диффузии в лунках агара, согласно методическим указаниям 2.3.2.2789-10. На поверхность стерильных Чашек Петри, в стерильной зоне, наносили 15 мл, расплавленного на водяной бане и охлажденного до 40-45°С МПА. Далее, охлаждали и ждали полного застывания агара в чашках. Затем проинкубированные в течении 18-24 часов тест-культуры с титром 10^9 микробных клеток сплошным посевом наносили на поверхность по 1,5 мл. После чего, металлической просечкой для формирования лунок в агаре, методом штамповки вырезали диаметром 5 мм по окружности, после чего в них включали по 0,15 мл пробиотических штаммов микроорганизмов L. acidophilus 13, E. faecium К-50 и их композиции. Чашки Петри помещали в термостат и инкубировали при температуре 37°С на протяжении 36 часов. С последующим замером зон задержки роста.

Оценку активности штаммов в условиях, имитирующих желудочно-кишечный тракт, выполняли согласно МУ 2.3.2.2789 – 10. Один миллилитр культур собирали в стерильную пробирку и центрифугировали при 8000 об/мин, на протяжении 10 мин, при 4°С. Гранулы клеток трижды промывали физиологическим раствором с фосфатным буфером, а затем ресуспендировали до 10^9 б/мл в бульоне MRS с pH 3,0. По 0,1 мл отбирали сразу и после 1, 2 и 3 ч инкубации при 37°С. Оценку толерантности бактерий проводили по количеству жизнеспособных колоний и подсчитывали после 24-часовой инкубации при 37°С методом подсчета на чашках Петри для всех образцов с использованием десятичных разведений, приготовленных в 0,1% пептоновом бульоне. Выживаемость бактерий выражали в логарифмических значениях колониеобразующих единиц на миллилитр (lg_{10} КОЕ/мл).

Переносимость солей желчи штаммами определяли путем измерения роста на бульоне MRS, в который было внесено 0,3% гликохолевой кислоты (Clearsynth) согласно МУ 2.3.2.2789 – 10. Штаммы L. acidophilus 13 и E. faecium К-50 выращивали в течение 12 часов в бульоне MRS. Количество жизнеспособных колоний определяли через 0, 1, 2 и 3 часов воздействия раствора имитирующего соли желчи. После инкубации в течение 24 ч при 37°С толерантность оценивали с использованием количественных показателей жизнеспособности (КОЕ/мл).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В ходе оценки продуктивности in vitro исследуемых пробиотических культур штамма Lactobacillus acidophilus 13 ВКПМ В-2585 и штамма Enterococcus faecium К-50 ВКПМ В-2579, а также их композициив отношении к тест-культурам Escherichia coli K-12 J53 и Staphylococcus aureus ATTCC 6538P была установлена выраженная антимикробная активность и толерантность к антибактериальным препаратам (Таблица 1).

Из данных таблицы 1 видно, что E. faecium К-50 на 23,5% (P <0,05) более чувствительны к ванкомицину, чем L. acidophilus 13, а к пенициллину на 25,0% (P <0,05). Однако при их сочетании устойчивость к указанным антибиотикам возрасла более чем в 2 раза (P <0,001). Согласно регистрации времени выделения резистентных к антибиотикам веществ, производимых испытуемыми пробиотическими штаммами бактерий, составляет 18 часа, а время, за которое активизируется рост микроорганизмов составил 24 часа.

Совместное применение пробиотиков и антибиотиков способствует воспановлению эобиоза кишечника уже на фоне антимикробной терапии. Поэтому сравнительно низкая их чувствительность к антибиотикам является важным условием производственной приемлимости. L. acidophilus обладают хромосомной антибиотикорезистентностью, при этом плазмиды, формирующие данную функцию у лактобактерий имеют малую молекулярную массу и не могут быть переданы другим микроорганизмам.

Таблица 1 – Показатели чувствительности штаммов L. acidophilus 13, E. faecium К-50, и их композиции к антибиотикам

Штамм	Диаметр зоны подавления роста микроорганизмов (мм)	
	Ванкомицин	Пенициллин
L. acidophilus 13	17,0±0,20	16±0,60
E. faecium К-50	21,0±0,60	20±0,80
L. acidophilus 13 и E. faecium К-50	10,0±1,00	9±1,20

Таблица 2 – Антагонистические свойства микроорганизмов L. acidophilus 13, E. faecium К-50 и их комозиции (зона задержки роста в мм)

Тест-культура	L. acidophilus 13	E. faecium К-50	L. acidophilus 13 и E. faecium К-50
E. coli K-12 J53	22,0+1,0	20,0+0,6	25,0+1,2
St. aureus ATTCC 6538P	13,0+0,6	16,0+1,0	17,0+1,5

Данное обстоятельство делает возможным и безопасным их применение. Механизм резистентности E. faecium к пенициллинам обусловлен с продукцией β-лактомаз, а также экспрессией низкоаффинного пенициллинсвязывающих белков или мутацией генов их кодирующих. Полученные нами результаты показали, что сочетание отмеченных механизмов резистентности даёт потенцирующий эффект усиления устойчивости, что обуславливает возможность применения комбинации штаммов совместно с антибиотиками из группы пенициллинов. Снижение чувствительности изучаемой комбинации к ванкомицину также указывает на эффективность её назначения на фоне антибиотикотерапии. Однако, при этом следует учитывать чувствительность к данному антибиотику актуальных возбудителей у больного животного, так как, увеличение пула ванкомицинрезистент-

ных энтерококков является одной из наиболее актуальных проблем современной медицины.

Проведенными исследованиями по определению антагонистических свойств испытуемых микроорганизмов был определён практический интерес к композиции, состоящей из пробиотических культур штаммов Lactobacillus acidophilus 13 ВКПМ В-2585 и Enterococcus faecium К-50 ВКПМ В-2579 (Таблица 2).

Согласно данным, из таблицы 2 выбранные нами пробиотические штаммы микроорганизмов L. acidophilus 13 и E. faecium К-50 проявляют значительную микробную активность в отношении условно-патогенных тест-культур, так пробиотический штамм L. acidophilus 13 оказывает умеренную активность в отношении к E. coli K-12 J53, где зоны ингибирования роста составили 22,0+1,0 мм по окружности лунки. Однако в отношении к St. aureus ATTCC 6538P исследуемый штамм проявляет малую микробную активность, и зона задержки роста вокруг лунок составила 13,0+0,6 мм. Пробиотический штамм E. faecium К-50 оказал более выраженную ингибирующую активность в отношении всех исследуемых тест-объектов, а именно зона задержки роста в отношении к E. coli K-12 J53 составила 20,0+0,6 мм, а в отношении штамма St. aureus ATTCC 6538P – 16,0+1,0 мм.

Наиболее существенные практические результаты были получены в опыте с применением композиции микроорганизмов L. acidophilus 13 и E. faecium К-50. Так, ингибирующая активность в отношении к E. coli K-12 J53 составила 25,0+1,2 мм, а в отношении St. aureus ATTCC 6538P зона задержки роста была равна 17,0+1,5 мм, что указывает о проявлении их комплексного синергетического эффекта и высокой антагонистической активности.

Полученные в ходе определения устойчивости пробиотических культур штамма Lactobacillus acidophilus 13 ВКПМ В-2585 и штамма Enterococcus faecium К-50 ВКПМ В-2579 при снижении pH до 3,0 и переносимость желчи (гликохолевой кислоты) штаммами представлены в таблице 3.

Выживаемость L. acidophilus 13 после 3-часового воздействия 0,3% раствора, имитирующего соли желчи, а именно первоначальные показатель был снижен с 9,06 до 8,91, что отражает выживаемость при критической концентрации, используемой для отбора устойчивых штаммов. Исследование выявило высокие показатели выживаемости L. acidophilus 13 и E. faecium К-50 в присутствии 0,3% раствора, что отражает высокую способность к выживанию и пролиферации при кишечных заболеваниях. Благодаря липофильной природе стероидного кольца желчных кислот, они обладают выраженной актимикробной активностью в основе которой лежит их деструктивное воздействие на наружную мембрану микроорганизмов, поэтому наличие желчи в кишечнике является одним из факторов, снижающих эффективность применения пробиотиков. Полученные нами данные указывают на достаточно высокую резистентность изучаемых штаммов к влиянию гликохолевой кислоты, что подтверждает их практическую ценность.

Таблица 3 – Жизнеспособность клеток L. acidophilus 13 и E. faecium К-50 при снижении pH до 3 и переносимость желчи (гликохолевой кислоты) штаммами

Время воздействия (ч)	Жизнеспособность клеток (log10 КОЕ/мл)			
	L. acidophilus 13	E. faecium К-50	L. acidophilus 13	E. faecium К-50
	Снижение pH бульона MRS		Гликохолевая кислоты	
	pH 3,0		0,3%	
0	9,11	5,03	9,06	4,96
1	8,99	4,98	8,99	4,91
2	8,81	4,96	8,96	4,87
3	8,75	4,88	8,91	4,82

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Согласно данным, полученных в ходе проведенного нами эксперимента, можно сделать вывод, что, исследуемые пробиотические штаммы микроорганизмы демонстрируют высокую способность противостоять суровым условиям окружающей среды, таким как снижение pH до 3,0 и переносимость желчи (гликохолевой кислоты) штаммами. А именно не значительное снижение первоначальных показателей L. acidophilus 13 и E. faecium K-50 с 9,11 до 8,75 и 5,03 до 4,88 КОЕ/мл, что свидетельствует о высокой жизнеспособности клеток микроорганизмов.

Так же пробиотические микроорганизмы L. acidophilus 13 и E. faecium K-50, применяемые в композиции, проявили высокую толерантность к антибактериальным препаратам – Ванкомицину и Пенициллину, где зоны задержки роста составили 10±1,0 мм и 9±1,2 мм соответственно.

Проведенная оценка антогонистических свойств испытуемых микроорганизмов показала, что наибольшую пробиотическую активность показала композиция из культур штамма Lactobacillus acidophilus 13 и штамма Enterococcus faecium K-50 проявляя высокую микробной активностью в отношении тест-культур E. coli K-12 J53 и умеренной антагонистической активностью в отношении тест-культуры St. aureus ATTCC 6538P, что имеет перспективу использования в качестве компонента биотерапевтических продуктов для комплексной профилактики и терапии заболеваний желудочно-кишечного трата бактериальной этиологии.

IN VITRO EVALUATION OF PROBIOTIC PROPERTIES AND BACTERIOCINOGENIC POTENTIAL OF STRAINS OF MICROORGANISMS L. ACIDOPHILUS 13, E. FAECIUM K-50 AND THEIR COMPOSITIONS

Zhivoderova A.I[1] – Asp. base of the Department of Epizootology and Microbiology; **Samoylenko V.S.**[2] – Candidate of Veterinary Sciences, Acting Department of Zoology and Parasitology of the Faculty of Medicine and Biology.

[1]Stavropol State Agrarian University
[2]North Caucasus Federal University
* viktor_samoylenko_26@mail.ru

ABSTRACT

It is known that the gut microbiota plays a central role in the health and biology of the animal, and is therefore important for scientific research. Microorganisms of the genus Lactobacllus are widespread in nature and are considered representatives of the microflora of the macroorganism of the animal. Lactobacllus acidophilus is widely used as a probiotic, and is known for its immunostimulating effect, it colonizes the intestines of a newborn and accompanies the animal throughout its life. Enterococcus faecium is also used as a probiotic, due to its high antagonistic activity against pathogenic microbiota, and also participates in the formation and maintenance of immunity. The purpose of this study was to evaluate the probiotic component of L. acidophilus 13, E. faecium k-50 in conditions simulating the gastrointestinal tract, to study the bacteriocinogenic potential and antagonistic properties of lactobacilli and enterococci and their composition. In this review, we summarize recent advances in understanding the mechanisms involved in bacterial tolerance to bile, with particular emphasis on research contributions. In addition, the physiological and ecological role of enzymes and their importance for animal health, as well as the function of bile acid as a regulator of metabolism, are discussed. Samples were used in the study.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Андреева А.В., Николаева О. Н., Кадырова Д. В., Алтынбеков О. М. Пробиотики для коррекции энтеробиоценоза телят / А.В. Андреева, О. Н. Николаева, Д. В. Кадырова, О. М. Алтынбеков // БОНЦ УрО РАН. – 2014. – №3. – С. 4.

2.Боровкова Е.А. Изучение биологических свойств и пробиотического потенциала кишечных лактобацилл / Е.А. Боровкова, Е.В. Алиева, Т.В. Фролова // Acta Biomedica Scientifica. – 2019. – №1. – С. 124-132.

3.Дускаев Г.К. Использование пробиоти-

ков и растительных экстрактов для улучшения продуктивности жвачных животных (обзор) / Г.К. Дускаев, Г.И. Левахин, В.Л. Королёв, Ф.Х. Сиразетдинов // Животноводство и кормопроизводство. – 2019. – №1. – С. 136-148.
4.Китаевская С. В. Современные тенденции отбора и идентификации пробиотических штаммов молочнокислых бактерий // Вестник Казанского технологического университета. – 2012. – №17. – С. 184-188.
5.Маннапова Р. Т. Молочная сыворотка и пробиотик для коррекции биологических и повышения продуктивных показателей животных / Р. Т. Маннапова, И. М. Файзуллин // Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. – 2010. – №. – С. 127- 130.
6.Пойманов М.А. Гематологический, биохимический и иммунологический статус телят, полученных при разных технологиях воспроизводства: дис. канд. вет. наук.: 06.02.01 / Пойманов Максим Александрович. Саратов, 2022. – 198 с.
7.Сетдеков Р. А. Иммунологические показатели новорожденных телят в неблагополучных по факторным инфекциям хозяйствах / Р. А. Сетдеков, Р. Х. Юсупов, Г. Р. Юсупова // Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. – 2013. – №1. – С. 251-256.
8.Хамагаева И.С., Щёкотова А.В., Хамаганова И.В. Кисломолочный продукт, обогащенный железом / И.С. Хамагаева, А.В. Щёкотова, И.В. Хамаганова // Дальневосточный аграрный вестник. – 2017. – №2 (42). – С. 132-138.
9.Anadón, A. Regulation and guidelines of probiotics and prebiotics. In: Ötles S, editor. Probiotics and prebiotics in food, nutrition and health / A. Anadón, V. Castellano, M.R. Martínez-Larrañaga // Boca Raton, FL: CRC. Press, LLC. Taylor & Francis Group. – 2014. – P. 91-113.
10.Bajagai, Y.S. Probiotics in animal nutrition—production, impact and regulation. / Y.S. Bajagai, A.V. Klieve, P.J. Dart, W.L. Bryden // In: Makkar HPS, editor. FAO animal production and health paper. Food and Agriculture Organization of the United Nation. – 2016. – Vol. 179. – P. 313-321.
11.Bengmark, S. Bioecological control of the gastrointestinal tract: the role of flora and supplemented probiotics and synbiotics / S. Bengmark // Gastroenterol Clin North Am. – 2005. – Vol. 34. – P. 413-436.
12.Bernardeau M., Lehtinen M.J., Forssten S.D., Nurminen P. Importance of the gastrointestinal life cycle of Bacillus for probiotic functionality / M. Bernardeau, M.J. Lehtinen, S.D. Forssten, P. Nurminen // J. Food Sci. Technol. – 2017. – Vol. 54. – P. 2570-2584.
13.Borchers, A.T. Probiotics and immunity / A.T. Borchers, C. Selmi, F.J. Meyers, C.L. Keen, M.E. Gershwin // J Gastroenterol. – 2009. – Vol. 44. – P. 26-46.
14.Bustos A.Y., Font de Valdez G., Fadda S., Taranto M.P. New insights into bacterial bile resistance mechanisms: the role of bile salt hydrolase and its impact on human health / A.Y. Bustos, G. Font de Valdez, S. Fadda, M.P. Taranto // Food Res Int [Internet]. – 2018. – V. 112. – P. 250-262.
15.Cavaco L.M. Detection of linezolid resistance due to the optrA gene in Enterococcus faecalis from poultry meat from the / L.M. Cavaco, J.F. Bernal, E. Zankari, M. Leon, R.S. Hendriksen, E. Perez-Gutierrez et al. // American continent (Colombia). J Antimicrob Chemother. – 2017. – V. 72(3). – P. 678-683.
16.Cencic, A. The role of functional foods, nutraceuticals, and food supplements in intestinal health / A. Cencic, W. Chingwaru // Nutrients. – 2010. – Vol. 2(6). –P. 611-625.
17.Charteris, W.P. Gradient diffusion antibiotic susceptibility testing of potentially probiotic lactobacilli / W.P. Charteris, [et all] // J. Food Prot. - 2001. - V. 64. - P. 2007-2014.
18.Gibson, R.G. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics / R.G. Gibson, M.B. Roberfroid // J Appl Bacteriol. – 1995. – Vol. 125(6). – P. 1401-1412.
19.Grajek, W. Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods / W. Grajek, A. Olejnik, A. Sip // Acta Biochim Pol. – 2005. – Vol. 52(3). – P. 665-671.
20.Krysiak K. Overview of the use of probiotics in poultry production / K. Krysiak, D. Konkol, M. Korczyński // Animals. – 2021.

– Vol. 11. – P. 1620.
21.Kuhn, K.A. Peripheral education of the immune system by the colonic microbiota / K.A. Kuhn, T.S. Stappenbeck // Semin Immunol. – 2013. – Vol. 25. – P. 364-369.
22.Munita J.M., Bayer A.S., Arias C.A. Evolving resistance among Gram-positive pathogens. Clin Infect Dis. – 2015. – V. 61. Suppl 2. – P. 48-57.
23.Munita J.M., Tran T.T., Diaz L. et al. A liaF codon deletion abolishes daptomycin bactericidal activity against vancomycin-resistant Enterococcus faecalis // Antimicrob Agents Chemother. – 2013.
24.Rawi, M.H. Prebiotics metabolism by gut -isolated probiotics. / M.H. Rawi, S.A. Zaman, K.F. Pa'ee, S.S. Leong, S.R. Sarbini // J. Food Sci. Technol. – 2020. – P. 13197.
25.Sarti M., Campanile F., Sabia C., Santagati M., Gargiulo R., Stefani S. Polyclonal diffusion of beta-lactamase-producing Enterococcus faecium. J Clin Microbiol 2012; 50 (1): 169-172.
26.Scavuzzi, B.M. Impact of prebiotics, probiotics and synbiotics on components of the metabolic syndrome / B.M. Scavuzzi, F.C. Henrique, LHS. Miglioranza, et al. // Ann Nutr Disord Ther. – 2014. – Vol. 1. – P. 1009.

REFERENCES

1.Andreeva A.V., Nikolaeva O. N., Kadyrova D. V., Altynbekov O. M. Probiotics for correction of enterobiocenosis of calves / A.V. Andreeva, O. N. Nikolaeva, D. V. Kadyrova, O. M. Altynbekov // BONTS UrO RAS. – 2014. – No.3. – P. 4.
2.Borovkova E.A. The study of biological properties and probiotic potential of intestinal lactobacilli / E.A. Borovkova, E.V. Aliyeva, T.V. Frolova // Acta Biomedica Scientifica. – 2019. – No. 1. – P. 124-132.
3.Duskaev G.K. The use of probiotics and plant extracts to improve the productivity of ruminants (review) / G.K. Duskaev, G.I. Levakhin, V.L. Korolev, F.H. Sirazetdinov // Animal husbandry and feed production. – 2019. – No. 1. – P. 136-148.
4.Kitaevskaya S. V. Modern trends in selection and identification of probiotic strains of lactic acid bacteria // Bulletin of Kazan Technological University. - 2012. – No. 17. – P.184-188.
5.Mannapova R. T. Milk serum and probiotic for correction of biological and increase of productive indicators of animals / R. T. Mannapova, I. M. Fayzullin // Scientific notes of the Bauman KGAVM. – 2010. – P.127- 130.
6.Poymanov M.A. Hematological, biochemical and immunological status of calves obtained with different reproduction technologies: dis. candidate of Veterinary Sciences.: 06.02.01 / Poymanov Maxim Alexandrovich. Saratov, 2022. – P. 198.
7.Setdekov R. A. Immunological parameters of newborn calves in farms unfavorable for factor infections / R. A. Setdekov, R. H. Yusupov, G.R. Yusupova // Scientific notes of the Bauman KGAVM. - 2013. – No.1. – P. 251-256.
8.Khamagaeva I.S., Shchekotova A.V., Khamaganova I.V. Fermented milk product enriched with iron / I.S. Khamagaeva, A.V. Shchekotova, I.V. Khamaganova // Far Eastern Agrarian Bulletin. – 2017. – №2 (42). – P. 132-138.
9.Anadón, A. Regulation and guidelines of probiotics and prebiotics. In: Ötles S, editor. Probiotics and prebiotics in food, nutrition and health / A. Anadón, V. Castellano, M.R. Martínez-Larrañaga // Boca Raton, FL: CRC. Press, LLC. Taylor & Francis Group. – 2014. – P. 91-113.
10.Bajagai, Y.S. Probiotics in animal nutrition—production, impact and regulation. / Y.S. Bajagai, A.V. Klieve, P.J. Dart, W.L. Bryden // In: Makkar HPS, editor. FAO animal production and health paper. Food and Agriculture Organization of the United Nation. – 2016. – Vol. 179. – P. 313-321.
11.Bengmark, S. Bioecological control of the gastrointestinal tract: the role of flora and supplemented probiotics and synbiotics / S. Bengmark // Gastroenterol Clin North Am. – 2005. – Vol. 34. – P. 413-436.
12.Bernardeau M., Lehtinen M.J., Forssten S.D., Nurminen P. Importance of the gastrointestinal life cycle of Bacillus for probiotic functionality / M. Bernardeau, M.J. Lehtinen, S.D. Forssten, P. Nurminen // J. Food Sci. Technol. – 2017. – Vol. 54. – P.

2570-2584.
13.Borchers, A.T. Probiotics and immunity / A.T. Borchers, C. Selmi, F.J. Meyers, C.L. Keen, M.E. Gershwin // J Gastroenterol. – 2009. – Vol. 44. – P. 26-46.
14.Bustos A.Y., Font de Valdez G., Fadda S., Taranto M.P. New insights into bacterial bile resistance mechanisms: the role of bile salt hydrolase and its impact on human health / A.Y. Bustos, G. Font de Valdez, S. Fadda, M.P. Taranto // Food Res Int [Internet]. – 2018. – V. 112. – P. 250-262.
15.Cavaco L.M. Detection of linezolid resistance due to the optrA gene in Enterococcus faecalis from poultry meat from the / L.M. Cavaco, J.F. Bernal, E. Zankari, M. Leon, R.S. Hendriksen, E. Perez-Gutierrez et al. // American continent (Colombia). J Antimicrob Chemother. – 2017. – V. 72(3). – P. 678-683.
16.Cencic, A. The role of functional foods, nutraceuticals, and food supplements in intestinal health / A. Cencic, W. Chingwaru // Nutrients. – 2010. – Vol. 2(6). –P. 611-625.
17.Charteris, W.P. Gradient diffusion antibiotic susceptibility testing of potentially probiotic lactobacilli / W.P. Charteris, [et all] // J. Food Prot. - 2001. - V. 64. - P. 2007-2014.
18.18.Gibson, R.G. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics / R.G. Gibson, M.B. Roberfroid // J Appl Bacteriol. – 1995. – Vol. 125(6). – P. 1401-1412.
19.Grajek, W. Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods / W. Grajek, A. Olejnik, A. Sip // Acta Biochim Pol. – 2005. – Vol. 52(3). – P. 665-671.
20.Krysiak K. Overview of the use of probiotics in poultry production / K. Krysiak, D. Konkol, M. Korczyński // Animals. – 2021. – Vol. 11. – P. 1620.
21.Kuhn, K.A. Peripheral education of the immune system by the colonic microbiota / K.A. Kuhn, T.S. Stappenbeck // Semin Immunol. – 2013. – Vol. 25. – P. 364-369.
22.Munita J.M., Bayer A.S., Arias C.A. Evolving resistance among Gram-positive pathogens. Clin Infect Dis. – 2015. – V. 61. Suppl 2. – pp. 48-57.
23.Munita J.M., Tran T.T., Diaz L. et al. A liaF codon deletion abolishes daptomycin bactericidal activity against vancomycin-resistant Enterococcus faecalis // Antimicrob Agents Chemother. – 2013.
24.Rawi, M.H. Prebiotics metabolism by gut -isolated probiotics. / M.H. Rawi, S.A. Zaman, K.F. Pa'ee, S.S. Leong, S.R. Sarbini // J. Food Sci. Technol. – 2020. – P. 13197.
25.Sarti M., Campanile F., Sabia C., Santagati M., Gargiulo R., Stefani S. Polyclonal diffusion of beta-lactamase-producing Enterococcus faecium. J Clin Microbiol 2012; 50 (1): 169-172.
26.Scavuzzi, B.M. Impact of prebiotics, probiotics and synbiotics on components of the metabolic syndrome / B.M. Scavuzzi, F.C. Henrique, LHS. Miglioranza, et al. // Ann Nutr Disord Ther. – 2014. – Vol. 1. – P. 1009.

УДК: 579.842.11:619
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.87

ПАТОГЕННЫЕ *ESCHERICHIA COLI*: ФАКТОРЫ ВИРУЛЕНТНОСТИ, РАСПРОСТРАНЕНИЕ, ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ

Забровская А.В.* – д-р ветеринар. наук, доц. кафедры паразитологии имени В. Л. Якимова (ORCID: 0000-0003-2655-75555)

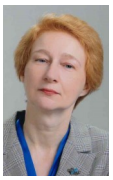
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* beringa20@mail.ru

***Ключевые слова**: Escherichia coli, факторы вирулентности, эшерихиозы, ЕНЕС, АРЕК*

***Key words**: Escherichia coli, virulence factors, escherichiosis, EHEC, APEC.*

Поступила: 20.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Escherichia coli являются составляющими норомофлоры желудочно-кишечного тракта животных и человека, однако, геном *E. coli* может содержать гены, кодирующие факторы вирулентности, обуславливая болезни животных и человека с широким спектром патологических изменений и клинических проявлений. Наличие или отсутствие факторов вирулентности не всегда коррелирует с серологической группой, что не всегда учитывается специалистами лабораторий и приводит к ошибкам в диагностике. По месту локализации вызываемого патологического процесса возбудителей эшерихиозов делят на диареегенные (DEC) и вызывающие болезни внекишечной локализации (ExPEC). По наличию специфических факторов вирулентности и патогенезу вызываемых болезней диареегенные *E. coli* подразделяют на энтеропатогенные (EPEC), энтероинвазивные (EIEC), диффузно-адгерентные (DAEC), энтероаггрегативные (EAggEC), энтеротоксигенные (ETEC) и шигатоксин-продуцирующие или энтерогеморрагические (EHEC или STEC). К последним трем группам относятся *E.coli*, способны вызывать болезни у продуктивных животных. К *E. coli* группы ExPEC относятся уропатогенные (UPEC), вызывающие менингит новорожденных и сепсис (NMEC, SEPEC) и авиа-патогенные (APEC), вызывающие колибактериоз у птиц. Основным фактором вирулентности EHEC является продукция шигатоксина, вызывающего в организме тяжелые изменения. У человека EHEC вызывают гемоколит, зачастую с развитием гемолитико-уремического синдрома (ГУС), приводящего к инвалидизации и иногда и смерти больного. Резервуаром EHEC является крупный рогатый скот, клинические признаки развиваются только у молодняка, взрослые животные могут быть носителями EHEC и контаминировать штаммами молоко и мясо. ETEC являются потенциальными возбудителями эшерихиозов телят и поросят. Группа APEC представлена штаммами *E. coli*, вызывающими инфекцию у домашней птицы, особенно у бройлеров, с разнообразным патологическим проявлением: септицемия, перитонит, перигепатит, инфекции воздушного мешка, остеомиелит.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION:

Escherichia coli являются составляющими нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта животных и человека, способствуя перевариванию пищи и синтезу витаминов в просвете кишечника [1]. В процессе ко-селекции с другими микроорганизмами, геном клетки непатогенной *E. coli* может приобретать генетические детерминанты, кодирующие в том числе и факторы вирулентности, обуславливая болезни животных и человека с широким спектром патологических изменений и клинических проявлений [2, 3]. Долгое время нормативные документы, регламентирующие диагностику эшерихиозов, предписывали отнесение выделенного штамма к вирулентным на основании его серогрупповой принадлежности. Однако, нет строгой корреляции наличия или отсутствия факторов вирулентности с серологической группой, что не всегда учитывается специалистами лабораторий и приводит к ошибкам в диагностике. Штаммы, принадлежащие к одной серологической группе, могут относиться к разным патогруппам, то есть обладать набором факторов вирулентности, обуславливающих развитие разных патологических процессов. В представленной статье содержатся сведения о факторах вирулентности основных патогрупп *E. coli*, механизму их патологического воздействия на организм животных и выделении патогенных *E. coli* от животных и из продукции животноводства.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Были проанализированы работы отечественных и зарубежных ученых, посвященные изучению факторов вирулентности и патотипов *E. coli* и патогенному потенциалу патогрупп. Изучены отчеты Европейского агентства по безопасности продуктов витания - EFSA (European Food Safety Authority) о выделении патогенных штаммов *E. coli* от животных и из продукции животного происхождения в динамике, за период с 2015 по 2021 годы.

РЕЗУЛЬТАТЫ / R ESULTS

Escherichia coli принадлежит к семейству Enterobacteriaceae и является представителем облигатной микрофлоры толстого кишечника теплокровных животных, в том числе человека. Количество данного микроорганизма в дистальных отделах кишечника может доходить до 10^{12} КОЕ/г [1].

Колонизация *E. coli* слизистой оболочки толстого кишечника человека или животного происходит в первые часы после рождения. По одной из теорий, выдвинутой A. Khan, высокой тропности *E. coli* к данной нише способствовало свойство утилизировать глюконат из просвета кишечника [2]. Поскольку *E. coli* в большом количестве выделяются с фекалиями во внешнюю среду, данный микроорганизм относят к санитарно-показательным и по его наличию судят о наличии фекальной контаминации воды или продуктов питания [3].

Штаммы обычной *E. coli* редко вызывают болезни, за исключением случаев иммунодефицита хозяина или разрушения гастроинтест, как например, в случае перитонита [2]. Однако, штаммы *E. coli* в результате переноса генетических элементов могут приобретать специфические свойства вирулентности, которые позволяют им реализовывать паразитические отношения с макроорганизмом [2]. Факторы вирулентности кодируются специфическими генами, которые могут находиться на хромосоме или внехромосомных генетических элементах, таких, как плазмиды или транспозоны [4].

Многими исследователями выявлено большое разнообразие факторов вирулентности, играющих различные роли в патогенезе вызываемых *E. coli* болезней [5, 6]. В настоящее время факторы вирулентности группируют по четырем видам функций: колонизация, приспособление, продукция токсинов, эффекторы. Было выявлено, что факторы вирулентности каждого патотипа имеют специфическую функцию и форму воздействия на макроорганизм, причем некоторые факторы вирулентности могут встречаться у штаммов разных патотипов. Например, фимбрии 1 типа могут быть у штаммов

EPEC, EHEC и DAEC, и, напротив, одну и ту же функцию (например, формирование биопленок у EHEC) могут выполнять разные факторы [4].

Обладая набором многообразных факторов вирулентности, обуславливающих различные механизмы патогенеза, *E. coli* способны вызывать болезни кишечной и внекишечной локализации. Возбудители кишечный инфекций у человека (IPEC) подразделяют на шесть основных «патотипов»: 1. Энтеропатогенные *E. coli* (EPEC); 2. Энтероинвазивные *E. coli* (EIEC); 3. Энтероаггрегативные E.coli (EAggEC или EAEC); 4. Диффузноадгерентные (DAEC); 5. Энтеротоксигенные *E. coli* (ETEC); 6. Энтерогеморрагические или шигатоксинпродуцирующие*E.coli* (EHEC или STEC) [5, 6, 7, 8]. Представители последних трех групп способны вызывать болезни у сельскохозяйственных животных, а EHEC также относится к зоонозам.

Эшерихии, вызывающие болезни внекишечной локализации (ExPEC), по специфическим факторам вирулентности подразделяют на уропатогенные (UPEC), вызывающие сепсис (SEPEC), вызывающие менингит у новорожденных (NMEC) и патогенные для птиц (APEC) [4].

EHEC (энтерогеморрагические *E. coli*) – эта группа микроорганизмов может быть также обозначена синонимами: STEC (shiga-like toxin- producing, shigatoxin-producing *E.coli*; шигаподобные токсин-продуцирующие, шигатоксинпродуцирующие *E.coli*), VTEC (verotoxinили verocytotoxin producing *E. coli*; веротоксин- или вероцитотоксин- продуцирующие *E. coli*). У людей EHEC вызывают гемоколит и гемолитико-уремический синдром (ГУС), зачастую приводящий к инвалидизации или гибели человека [4].

Продукция основного фактора вирулентности *E.coli* данной группы - шигаподобного токсина кодируется генами *stx*, который подразделяется на две подгруппы: шига-токсин 1 (*stx1*), имеющий сродство с шига-токсином *S.dysenteriae* 1, и шига-токсин 2 (*stx2*), который имеет около 60% гомологии с *stx1*. Кроме того, у каждого типа токсина имеются подтипы. *Stx2a*, *stx2c*, *stx2d* наиболее часто выделяют у больных людей с ГУС. Шигатоксин состоит из двух субъединиц А, и В. Субъединица А обладает цитотоксическим действием, субъединица В способствует прикреплению молекулы токсина к клетке-мишени [4].

Кроме шига-токсина, EHEC обладают такими факторами вирулентности, как факторы адгезии, формирование биопленок, продукция интимина [4, 5]. Было отмечено, что на экспрессию факторов вирулентности влияют условия окружающей среды: pH, температура, наличие питательных веществ.

Наиболее распространенным и давно известным этиологическим агентом группы EHEC является *E. coli* O157:H7, вспышка, вызванная которым, впервые описана в 1983 г. В 1991 году инфекции, вызываемой O157:H7, была выделена в собственную нозологическую единицу из -за часто вызываемого осложнения – ГУС. В последствии к EHEC отнесли также серологические варианты O26:H11; O45:H2; O4:H-; O111:H-; O145:H-; O104:H4 и многие другие [1, 9]. В 2011 году в Германии, Франции, а затем и в других странах Европы, был выделен штамм *E. coli*, принадлежащий к серологическому варианту O104:H4, вызывавший вспышку тяжелого гемоколита, во многих случаях осложнявшегося ГУС. При секвенировании генома возбудителя было установлено, что данный штамм является гибридным и обладает факторами вирулентности, типичными как для EHEC, так и для EAggEC [4].

Поскольку *E. coli* серологического варианта O157:H7 были первыми признаны причиной гемоколита с ГУС у людей, подавляющее наибольшее количество информации об эпизоотологии и эпидемиологии инфекций, вызванных EHEC, относится к данному серологическому варианту [10]. Основным резервуаром этих микроорганизмов являются жвачные животные: крупный рогатый скот, овцы, козы, иногда верблюды. По мнению экспертов EFSA (European Food Safety Au-

tority), в благополучном по инфекциям желудочно-кишечного тракта стаде могут находиться животные «супервыделители», которые более длительно и массивно выделяют возбудителей во внешнюю среду. К человеку ЕНЕС могут попадать не только при употреблении мясной и молочной продукции, но также овощей и зелени, для выращивания которых использовались органические удобрения, содержащие навоз жвачных [4]. Потенциальными переносчиками возбудителей являются птицы и мухи. L. Beutin, A. Chandran и другими авторами отмечено, что из проб фекалий здоровых животных чаще выделяют *E. coli*, обладающие геном stx_1, чем геном stx_2 [5].

Кроме жвачных, ЕНЕС были также обнаружены у свиней, кроликов, лошадей, собак, бизонов, оленей, енотов, опоссумов; у птиц, включая цыплят, индеек, гусей, голубей, чаек, грачей и других видов диких птиц [5]. По мнению С. DebRoy, J.P. Nataro и других исследователей, животные, для которых носительство *E.coli* O157 не является типичным, могут быть вторичным (дополнительным) резервуаром после контакта со жвачными [6, 11].

ЕНЕС распространены повсеместно. По данным Pan American Health Organization и ряда других источников, серотип O157:H7 был выделен при вспышках в Канаде, Великобритании, США, Аргентине, Бельгии, бывшей Чехословакии, Китае, Германии, Голландии, Ирландии, Италии, Японии, Южной Африке, России [1]. В настоящее время около 50% штаммов ЕНЕС, вызывающих болезни, не являются O157, а принадлежат к серологическим группам O26, O103, O104, O111, O113 [5].

Поскольку ЕНЕС вызывает тяжелую форму геморрагического колита у людей, эта группа *E.coli* является объектом всестороннего мониторинга в различных странах.

В странах Евросоюза в 2015 году ЕНЕС была обнаружена в 6,8% проб, взятых от животных. Наиболее часто эти микроорганизмы изолировали от овец и коз – 18,5%, пробы от крупного рогатого скота, так же, как и свиней, были положительными по содержанию ЕНЕС в 8,3% случаев [12].

В 2021 году из образцов продуктов категории «свежее мясо, полученное из различных источников», штаммы ЕНЕС содержали 7%, что несущественно отличается от показателей 2015 года, эти же микроорганизмы были обнаружены в 6,3% проб бакалейных изделий, молока и молочных продуктов «не готовых к употреблению» - в 2%, пробы овощей и соков были контаминированы ЕНЕС в 0,5% случаев [12].

По данным EFSA, от крупного рогатого скота в 2015 году в странах Евросоюза были выделены ЕНЕС, принадлежащие к пяти серологическим группам: O1, O2, O103, O121, O157. ЕНЕС, выделенные из говядины, принадлежали к серологическим группам O157, O26, O148, O8, O103, O91, O130, O174, и O113. В мясе овец и коз чаще всего обнаруживали *E.coli*, серогрупп O157, O26, O103 и O91. Из свежей оленины - серогруппы O146. Также отмечены случаи выделения ЕНЕС из мяса нежвачных животных: из туш свиней, конины, крольчатины, мяса дикого кабана, мяса домашней птицы. ЕНЕС, выделенные из молока и молочных продуктов, принадлежали к серогруппам O157, O26, O103. Было отмечено, что ЕНЕС серогрупп O16 и O103 в основном выделяли из молока и молочных продуктов, а также из мяса овец и крупного рогатого скота, то время как штаммы O157 изолировали как из мясных и молочных продуктов, так и из овощей и фруктов [12].

В 2021 году штаммы ЕНЕС были выделены из мяса крупного и мелкого рогатого скота и других жвачных животных, лошадей, кроликов, кур, уток, гусей, дичи. Штаммы ЕНЕС, выделенные из продуктов питания, как правило, принадлежали к тем же группам, что и выделенные от людей. Чаще всего это были серологические группы O157, O146, O145, O113, O103, O100, O26 и др. Штаммы этих же групп были выделены и от животных, но спектр серологических вариантов, выде-

ленных их этого источника, отличался от выделенных от людей и из продуктов питания [13].

В США ЕНЕС обнаруживали в 10 – 20% проб говядины и в 17% проб в Италии. Чаще всего возбудителями инфекции у людей в США являлись ЕНЕС серогрупп О26, О45, О103, О111, О121 и О145 [14]. По данным из США, Индии, Новой Зеландии и Бельгии, контаминация говядины ЕНЕС может составлять от 1,8 до 50,0%. Вариабельность результатов идентификации может зависеть от метода сбора проб, типа пробы, хранения, метода исследования, географической зоны и даже рациона питания животных [14].

Исследования в Иране показали, что 29,0% проб содержали *E. coli*, из этого количества 64,2% являлись ЕНЕС. Из мяса овец и крупного рогатого скота ЕНЕС выделяли чаще (34,5% и 29,7% соответственно), чем из мяса верблюдов (19,6%). Выделенные штаммы ЕНЕС принадлежали к серологическим группам О157, О26, О104, О111, О145, О91. О113, О121 и О128, при этом преобладали штаммы О157. Были обнаружены гены вирулентности: *stx1, stx2, eaeA, ehly* и 6 видов генов резистентности: bla_{SHV}, *aac*(3) IV, *tet*A, CITV, *aad*A1 и *dfr*A1[15]. Исследования, проведенные в разные годы в разных странах: Италии, Австралии и Германии показывали, что наиболее высокое содержание ЕНЕС обнаруживали в баранине. Можно предположить, что большее употребление воды овцами по сравнению с животными других видов может являться причиной контаминации мяса [15].

Взрослые животные, как правило, являются бессимптомными носителями ЕНЕС, болезни желудочно-кишечного тракта могут возникать у молодняка. Согласно результатам исследований H.S. Hussein, H. Momas и других, от больных диареей телят изолировали *E. coli*, принадлежащие к серологическим группам О8, О9, О15, О20, О26, О103, О111, О113, О118, О126, О145, О157 [16]. Другие авторы (E.A. Dean-Nystrom, T.D. Nguyen, J.A. Orden, и др.) отмечают значительно меньший (менее 10,0%) уровень выделения ЕНЕС от телят [11, 17]. Большинство штаммов *E. coli*, выделенных от больных телят, продуцировали шигатоксин Stx1, эшерихии, продуцирующие шигатоксин Stx2, чаще выявляли у клинически здоровых животных [8]. Посмертные патологические изменения у жвачных характеризовались воспалением слизистой оболочки толстого кишечника, в некоторых случаях отмечено наличие фибриногеморрагической экссудации [1].

Энтеротоксигенные *Escherichia coli* (ETEC) выделяют энтеротоксины в тонком отделе кишечника человека и вызывают так называемую «диарею путешественников» и острую кишечную инфекцию с высокой смертностью у детей до двух лет в развивающихся странах [4]. ЕТЕС также вызывают колибактериозы у молодняка сельскохозяйственных животных: телят, поросят и птиц [4].

ЕТЕС обладают двумя главными факторами вирулентности: факторы колонизации и энтеротоксины. Клетка ЕТЕС вначале прикрепляется к поверхности энтероцита в тонком кишечнике с помощью факторов колонизации (фимбрии или пили), кодируемых генами, расположенными на плазмидах, и затем синтезирует токсин. ЕНЕС могут синтезировать термолабильный (LT) и термостабильный (ST) токсины, как по отдельности, так и оба. Продукция термостабильных токсинов кодируется генами *estA* и *estB*, которые могут находиться как на хромосоме, так и на плазмидах и способны передаваться другим штаммам, которые не продуцируют токсины. Штаммы, продуцирующие термостабильные токсины, могут вызывать болезни у людей и поросят. Термолабильные токсины подразделяют на подтипы LTI и LTII. Было установлено, что штаммы, продуцирующие токсин LTII, чаще выделяют от свиней, чем от людей [4].

Энтеротоксигенные штаммы, вызывающие диарею телят, в отличие от штаммов, вызывающих диарею у человека, в основном продуцируют термостабильный токсин и пили типа F4 (K88), F5 (K99),

F41, 987P, которые являются колонизирующими факторами и у новорожденных поросят [1]. Диарея поросят-отъемышей вызывается гемолитическим штаммом ETEC, имеющим фактор колонизации F4 (K88), но у ряда штаммов этот фактор неизвестен [1].

По мнению Kaper, J.B., *Escherichia coli*, относящиеся к **энтероаггрегативным**, у животных вызывает спорадические случаи маститов, урогенитальных инфекций, аборты и другие патологические процессы [2].

Патогенные для птиц *E. coli*, объединенные в группу **APEC,** вызывают у домашних и диких птиц септицемию, хронические респираторные инфекции, сальпингиты, перитониты, перикардиты, хронические болезни кожных покровов, остеомиелиты, синдром опухшей головы [14, 18, 19]. Кроме внекишечной локализации, APEC также могут быть причиной вторичной инфекции. Экономический ущерб складывается из потерь от смертности, снижения скорости привеса и эффективности конверсии корма у больной птицы, выбраковки некондиционных тушек. В Бразилии колибактериоз, вызываемый APEC, служит причиной выбраковки 45,2% тушек птицы [20].

Многочисленные факторы вирулентности у APEC представлены факторами адгезии (фимбрии 1 типа, P-фимбрии и др.), факторами инвазии, аэробактином, токсинами [20].

Молекулярно-генетические исследования показали связь между APEC и внекишечной патологией человека. Факторы вирулентности у APEC могут быть общими с группой уропатогенных *E.coli* и ассоциированных с менингитом новорожденных, однако, нет документированных фактов прямой передачи штаммов APEC человеку через продукцию птицеводства [20]. Довольно часто выделенные от птиц APEC принадлежат к серологической группе O6, представители которой могут быть и уропатогенными.

ВЫВОДЫ / CONCLUSIONS

E. coli обладают невероятно пластичным геномом, в з ВЫВОДЫ / CONCLUSIONЗависимости от наличия факторов вирулентности этот микроорганизм может быть как комменсальным, так и смертельно опасным. Достоверная идентификация патогенных *E. coli* является актуальной для ветеринарии с позиции назначения эффективного лечения и биологической безопасности продукции животноводства. Поскольку факторами вирулентности может обладать представитель любой серологической группы, необходимо ввести в рутинную процедуру идентификации *E. coli* детекцию факторов вирулентности, проводить мониторинг распространения патогенных штаммов среди сельскохозяйственных животных и в продукции животноводства.

PATHOGENIC ESCHERICHIA COLI: VIRULENCE FACTORS, SPREAD, DIAGNOSTIC PROBLEMS

Zabrovskaia A.V.* - Doctor of Veterinary Science, associate professor of the Department (ORCID: 0000-0003-2655-75555)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*beringa20@mail.ru

ABSTRACT

Escherichia coli are components of the noromoflora of the gastrointestinal tract of animals and humans, however, the E. coli genome may contain genes encoding virulence factors, causing diseases of animals and humans with a wide range of pathological changes and clinical manifestations. The presence or absence of virulence factors does not always correlate with the serological group, which is not always taken into account by laboratory specialists and leads to errors in diagnosis. According to the location of the pathological process caused, escherichiosis pathogens are divided into diarrheal (DEC) and disease-causing extra-intestinal localization (ExPEC). According to the presence of specific virulence factors and the pathogenesis of the diseases caused, diarrheogenic E. coli are divided into enteropathogenic (HERES), enteroinvasive (EIEC), diffuse-adhesive (DAEC), enteroaggregative

(EAggEC), enterotoxigenic (ETES) and shigatoxin-producing or enterohemorrhagic (ENES or STEC). The last three groups include E.coli, which can cause diseases in productive animals. To E. The coli of the EXP group include uropathogenic (UPEC), which cause neonatal meningitis and sepsis (NMEC, SEPEC) and airborne pathogenic (ARES), which cause colibacteriosis in birds. The main factor in the virulence of ENES is the production of shiga, a toxin that causes severe changes in the body. In humans, ENES cause hemocolitis, often with the development of hemolytic-uremic syndrome (HUS), leading to disability and sometimes death of the patient. Cattle are the reservoir of ENES, clinical signs develop only in young animals, adult animals can be carriers of ENES and contaminate milk and meat with strains. These are potential pathogens of Escherichia coli in calves and piglets. The ARES group is represented by E. coli strains that cause infection in poultry, especially broilers, with a variety of pathological manifestations: septicemia, peritonitis, perigepatitis, air bag infections, osteomyelitis.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ:

1. Zoonoses and communicable diseases common to man and animal. Third edition. Scientific and Technical Publication No 580. PAN AMERICAN HEALTH ORGANISATION, 2001. – 378 P.
2. Kaper, J.B. Pathogenic *Escherichia coli*/ J.B. Kaper, J.P. Nataro, H.L.T. Mobley// Nature Reviews. Microbiology. – 2004. – Vol.2. - P.123-140.
3. Fesseha, H. Review of *Escherichia coli* Infections of Veterinary Importance / H. Fessena, Asefas I. // in *Escherichia coli* Infection – An Update. ed. Luis Rodrigo. DOI: 10.5772/intechopen.106703
4. Pakbin, B. Virulence Factors of Enteric Pathogenic *Escherichia coli*: A Review // International Journal of Molecular Sciences. 2021. – Vol.22. – P.9922 DOI: https://doi.org/10.3390/ijms221189922
5. Chandran, A. Prevalence of Diarrhea-Associated Virulence Genes and Genetic Diversity in *Escherichia coli* Isolates from Fecal Material of Various Animal Hosts/ A. Chandran, A. Mazumder // Applied and Environmental Microbiology. - 2013. - Vol.79. – №.23. – P.7131-7380 DOI: 10.1128/AEM.02653-13
6. Nataro, J.P. Diarrheagenic *Escherichia coli*/ J.P.Nataro, J.B.Kaper//Clinical Microbiological Reviews//1998. – Vol.11. – P.142 -201.
7. DebRoy, C. Identification of virulence attributes of gastrointestinal *Escherichia coli* isolates of veterinary significance/ C.DebRoy, CW.Maddox // Animal Health Research Reviews. – 2001. - Vol.2. – P.129 – 140.
8. Maninil, J.G. Assotiation between the effacing (eae) gene and Shiga-like toxin-encoding genes in *Escherichia coli* isolates from cattle / J.G.Maninil, E.R.Jacquemin, A.E.Kaeckenbeeck, P.H.Pohl // American Journal of Veterinary Research. - 1993. – Vol.54. – P.1064-1068.
9. Bettelheim, K.A. The non-O157 Shigatoxigenic (verotoxigenic) *Escherichia coli*; under-ratedpathogens/K.A.Bettelheim// Critical Reviews in Microbiology. – 2007. – Vol.33. – P.67-87.
10. Ряпис, Л.А. Характеристика штаммов Escherichia coli O157:H7, изолированных на территориях Центрального Федерального округ Л.А.Ряпис и др. //Журнал микробиологии. – 2005. - №1. – С.7 – 11.
11. Dean-Nystrom, E.A. Pathogenesis of *Escherichia coli* O157:H7 in weaned calves/ E.A.Dean-Nystrom, B.T.Bosworth, H.W.Moon // Advances in Experimental Medicine and Biology. – 1999. – Vol.473. - P.173-177.
12. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. Режим доступа: http://ecdc.europa.eu/ en/ publications/Publications/EU-summary-report-trends-sources-zoonoses-2015.pdf.
13. The European Union One Health 2021 Zoonoses Report.// EFSA Journal. 2022. – Vol.20(12):7666 doi:10.2903/j.efsa.2022.7666
14. Grant, M.A. The Significance of Non-O157 Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* in Food/M.A.Grant, C.Hedberg,

R.Johnson, J.Harris, C.M.Logue et al.//Food Protection Trends. – 2011. – Vol.31. - №1. – P.33-45.
15. Momas, H. Incidence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serogroups in ruminant's meat/ H.Momas, F.Safarpoor Dehkordi, E. Rahimi, H. Ezadi, R.Arab // Meat Science. – 2013. – Vol.95. – P.381-388 DOI:10.1016/j.meatsci.2013.04.051.
16. Hussein, H.S. Prevalence and pathogenicitiy of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef cattle and their products/ H.S.Hussein// Journal of Animal Sciience. – 2007 Mar; 85(13 Suppl):E63-72 pub 2006 Oct 23.
17. Osek, J. Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from calves in Poland/J.Osek, P.Gallien, D.Protz// Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases. – 2000. - Vol.23. – P.267-276.
18. Fallavena, L.C.V. Diagnosis of skin lesions in condemned or downgraded broiler carcasses – a microscopic and macroscopic study/ L.C.B. Fallavena, H.L.S. Moraes, C.T.P. Salle, A.B. da Silva, R.S. Vargas et al.//Avian Pathology. – 2000. – Vol.29. – P.557-562.
19. Nakazato, G. Virulence factors of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC)/ G.Nakazato, T.Amabile de Campos, E. Guedes Stehling, M.Brocchi, W.Dias da Silveira// Pesq. Vet.Bras. – 2009. – Vol.29. - №7. – P.489 – 486.
20. Jonare, L. Core genome multilocus sequence typing (cgMLST) confirms systemic spread of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) in broilers with cellulitis / L. Jonare, E. Östlund, R. Söderlund, I. Hasson, A. Aspán, D.S. Jansson // Veterinary Microbiology. – 2023. – Vol.282. – P. 109755 DOI: https://doi.org/10.1016/
j.vetmic.2023.109755

REFERENCES

1. Zoonoses and communicable diseases common to man and animal. Third edition. Scientific and Technical Publication No 580. PAN AMERICAN HEALTH ORGANISATION, 2001. – 378 P.
2. Kaper, J.B. Pathogenic *Escherichia coli*/ J.B. Kaper, J.P. Nataro, H.L.T. Mobley// Nature Reviews. Microbiology. – 2004. – Vol.2. - P.123-140.
3. Fesseha, H. Review of *Escherichia coli* Infections of Veterinary Importance / H. Fessena, Asefas I. // in *Escherichia coli* Infection – An Update. ed. Luis Rodrigo. DOI: 10.5772/intechopen.106703
4. Pakbin, B. Virulence Factors of Enteric Pathogenic *Escherichia coli*: A Review // International Journal of Molecular Sciences. 2021. – Vol.22. – P.9922 DOI: https:// doi.org/10.3390/ijms221189922
5. Chandran, A. Prevalence of Diarrhea-Associated Virulence Genes and Genetic Diversity in *Escherichia coli* Isolates from Fecal Material of Various Animal Hosts/ A. Chandran, A. Mazumder // Applied and Environmental Microbiology. - 2013. - Vol.79. – №.23. – P.7131-7380 DOI: 10.1128/ AEM.02653-13
6. Nataro, J.P. Diarrheagenic *Escherichia coli*/ J.P.Nataro, J.B.Kaper//Clinical Microbiological Reviews//1998. – Vol.11. – P.142 -201.
7. DebRoy, C. Identification of virulence attributes of gastrointestinal *Escherichia coli* isolates of veterinary significance/ C.DebRoy, CW.Maddox // Animal Health Research Reviews. – 2001. - Vol.2. – P.129 – 140.
8. Maninil, J.G. Assotiation between the effacing (eae) gene and Shiga-like toxin-encoding genes in *Escherichia coli* isolates from cattle / J.G.Maninil, E.R.Jacquemin, A.E.Kaeckenbeeck, P.H.Pohl // American Journal of Veterinary Research. - 1993. – Vol.54. – P.1064-1068.
9. Bettelheim, K.A. The non-O157 Shiga-toxigenic (verotoxigenic) *Escherichia coli*; under-ratedpathogens/K.A.Bettelheim// Critical Reviews in Microbiology. – 2007. – Vol.33. – P.67-87.
10. Ryapis, L.A. Characteristics of Escherichia coli O157:H7 strains isolated in the territories of the Central Federal District L.A.Ryapis et al. //Journal of Microbiology. - 2005. - No. 1. – pp.7-11.
11. Dean-Nystrom, E.A. Pathogenesis of *Escherichia coli* O157:H7 in weaned calves/ E.A.Dean-Nystrom, B.T.Bosworth,

H.W.Moon // Advances in Experimental Medicine and Biology. – 1999. – Vol.473. - P.173-177.
12. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. Режим доступа: http://ecdc.europa.eu/ en/ publications/Publications/EU-summary-report-trends-sources-zoonoses-2015.pdf.
13. The European Union One Health 2021 Zoonoses Report.// EFSA Journal. 2022. – Vol.20(12):7666 doi:10.2903/ j.efsa.2022.7666
14. Grant, M.A. The Significance of Non-O157 Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* in Food/M.A.Grant, C.Hedberg, R.Johnson, J.Harris, C.M.Logue et al.//Food Protection Trends. – 2011. – Vol.31. - №1. – P.33-45.
15. Momas, H. Incidence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serogroups in ruminant's meat/ H.Momas, F.Safarpoor Dehkordi, E. Rahimi, H. Ezadi, R.Arab // Meat Science. – 2013. – Vol.95. – P.381-388 DOI:10.1016/j.meatsci.2013.04.051.
16. Hussein, H.S. Prevalence and pathogenicitiy of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef cattle and their products/ H.S.Hussein// Journal of Animal Sciience. – 2007 Mar; 85(13 Suppl):E63-72 pub 2006 Oct 23.
17. Osek, J. Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from calves in Poland/J.Osek, P.Gallien, D.Protz// Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases. – 2000. - Vol.23. – P.267-276.
18. Fallavena, L.C.V. Diagnosis of skin lesions in condemned or downgraded broiler carcasses – a microscopic and macroscopic study/ L.C.B. Fallavena, H.L.S. Moraes, C.T.P. Salle, A.B. da Silva, R.S. Vargas et al.//Avian Pathology. – 2000. – Vol.29. – P.557-562.
19. Nakazato, G. Virulence factors of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC)/ G.Nakazato, T.Amabile de Campos, E. Guedes Stehling, M.Brocchi, W.Dias da Silveira// Pesq. Vet.Bras. – 2009. – Vol.29. - №7. – P.489 – 486.
20. Jonare, L. Core genome multilocus sequence typing (cgMLST) confirms systemic spread of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) in broilers with cellulitis / L. Jonare, E. Östlund, R. Söderlund, I. Hasson, A. Aspán, D.S. Jansson // Veterinary Microbiology. – 2023. – Vol.282. – P. 109755 DOI: https://doi.org/10.1016/ j.vetmic.2023.109755

УДК: 636.09
DOI:DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.96

ЭФФЕКТИВНОСТЬ НАУЧНО-ОБОСНОВАННЫХ ПРОГРАММ МОНИТОРИНГА И ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ МЕРОПРИЯТИЙ ПРИ УПРАВЛЯЕМЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЯХ ЖИВОТНЫХ

Порываева А.П.* – д-р биол. наук; **Печура Е.В.** – канд. ветеринар.наук; **Петрова О.Г.** – д-р ветеринар. наук; Безбородова Н.А. – канд. ветеринар. наук; **Лысова Я.Ю.** – науч. сотр.; **Белоусова Д.А.** – асп.

ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр» УрО РАН

*app1709@inbox.ru

Ключевые слова: *крупный рогатый скот, острые респираторные вирусные инфекции, диагностика, мониторинг, профилактические мероприятия, вакцинопрофилактика.*

Keywords: *diagnostics, monitoring, preventive measures, vaccination, acute respiratory viral infections, animals.*

Финансирование. *Исследования выполнены в рамках направления 160 Программы ФНИ государственных академий наук по теме «Изучить структуру антигенного пейзажа возбудителей эмерджентных инфекций сельскохозяйственных животных, биологические особенности механизмов их взаимодействия с макроорганизмом» (№ 0532-2021-0007).*

Поступила: 25.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Целью работы стало дать оценку эффективности усовершенствованной программы мониторинга за управляемыми инфекционными болезнями животных и индивидуальных программ вакцинопрофилактики острой респираторной вирусной инфекции крупного рогатого скота. Для выполнения поставленных задач были проведены серологические исследования, ПЦР - диагностика, бактериологические и копрологические методы обследования биологических проб от животных. В результате работы определены основные факторы, влияющие на эффективность вакцинопрофилактики острой респираторной вирусной инфекции в популяциях крупного рогатого скота. Установлено, что в трёх административно-управленческих округах Свердловской области основными факторами в 35,1 % случаев являются нарушения регламента мероприятий вакцинопрофилактики острой респираторной вирусной инфекции крупного рогатого скота, в 13,5 % случаев – нарушения зоогигиенических и ветеринарно-санитарных условий содержания сельскохозяйственных животных. Проведена комплексная оценка эффективности индивидуаль-

ных программ вакцинации поголовья крупного рогатого скота против острой респираторной вирусной инфекции с учетом эпизоотологической ситуации в сельскохозяйственных организациях. Показано, что вакцинация поголовья крупного рогатого скота против острой респираторной вирусной инфекции по индивидуальным программам обеспечивало формирование специфического иммунитета у 92,5-95,0% животных. Количество иммунотолерантных особей и животных с низким уровнем иммунореактивности в физиологической группе молодняка крупного рогатого скота не превышало 3,5 %, в физиологической группе взрослых животных – 1,25 %. Подтверждена высокая эффективность усовершенствованных научно-обоснованных программам мониторинга, диагностики, лечебных, профилактических и оздоровительных мероприятий по защите животных от эпизоотически значимых инфекционных болезней крупного рогатого скота среди популяций сельскохозяйственных животных Уральского Федерального Округа.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Вопросы оздоровления и защиты популяций животных от эпизоотически значимых болезней являются актуальными для ветеринарной науки и практики. Основным методологическим инструментом в реализации этих задач для ветеринарной практики служат научно-обоснованные программы лечебно-профилактических и оздоровительных мероприятий по защите животных от эпизоотически значимых инфекционных болезней крупного рогатого скота [4, 6, 14, 17]. При разработке и внедрении в ветеринарную практику таких научно-обоснованные программы одним из важных моментов является индивидуализация программ вакцинопрофилактики. При разработке индивидуальных программ, во -первых, необходимо учитывать особенности антигенного пейзажа возбудителей инфекционных болезней на конкретной территории, во-вторых, определить основные негативные факторы, влияющие на процессы антителообразования у крупного рогатого скота при вакцинопрофилактике. Цель работы – дать оценку эффективности усовершенствованной программе мониторинга за управляемыми инфекционными болезнями животных и индивидуальных программ вакцинопрофилактики ОРВИ КРС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования выполнены в отделе мониторинга и прогнозирования инфекционных болезней Уральского НИВИ – структурном подразделении ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН. Клинические исследования проведены в сельскохозяйственных организациях (СХО) по разведению крупного рогатого скота на территории УрФО (Свердловская область) в период 2017-2021 гг.

Объект исследования – крупный рогатый скот, принадлежащий сельскохозяйственным организациям Уральского Федерального Округа: новорожденные телята до выпойки молозива, телята, телки, нетели, стельные коровы, дойные коровы Биоматериалы: кровь и сыворотка крови крупного рогатого скота – 4166 образцов; смывы и соскобы со слизистых оболочек урогенитального тракта, носовых ходов, глаз; гомогенаты паренхиматозных органов и плаценты; лейкоцитарные фракции крови – 1117 образцов; фекалии – 759 образцов.

Телят вакциной «Комбовак» прививали по схеме № 1 в возрасте 30 суток – 1 доза вакцины (2 мл); в возрасте 50 суток – 2 доза вакцины (2 мл) – раздел 3, п.10 «инструкция по применению»

Телят вакциной «Хипрабовис» прививали в возрасте 4-6 недель – 1 доза вакцины (3мл), через 21 день 2 доза вакцины (3мл) – раздел 3, п.9 «инструкция по применению»

Анализ реализации вакцинопрофилактики ОРВИ была проведена в сельскохозяйственных организациях (n=37) Южного, Западного, Восточного управленческих округов Свердловской области.

Серологический скрининг биопроб на

острые респираторные вирусные инфекции осуществляли в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) с использованием «Набора диагностикумов для серологической диагностики парагриппа-3 крупного рогатого скота реакцией торможения гемагглютинации (РТГА), производства ООО «Агровет», г. Москва». В реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) с применением «Набора диагностикумов для серологической диагностики вирусной диареи-болезни слизистых крупного рогатого скота методом непрямой гемагглютинации (РНГА); «Набора диагностикумов для серологической диагностики инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота методом непрямой гемагглютинации (РНГА); «Набора диагностикумов для серологической диагностики респираторно-синцитиальной инфекции крупного рогатого скота методом непрямой гемагглютинации (РНГА), производства ООО «Агровет», г. Москва». Учет результатов РТГА и РНГА проводили визуально в соответствии с методическими указаниями к наборам.

Серологический скрининг биопроб проводили также методом твердофазного ИФА с использованием тест-систем производства IDEXX Laboratories, Inc, США: «IBR gB Blocking Ab Test»; «IBR gE Ab Test»; Chlamydiosis Total Ab Test»; «BVDV Total Ab Test»; «RSV IgG Ab Test»; «PI-3 Ab Test»; «Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) Antigen Test Kit/ Serum Plus»; «Rota-Corona-K99 Antigen Test». Учет результатов исследований проводили на фотометре «iMark^{TM}» (“Bio-RAD” Корея).

Молекулярно-генетические исследования биоматериалов проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). ПЦР — исследования осуществляли при помощи наборов для выделения РНК и ДНК «Diatom DNA Prep 200» (ООО «ИзоГен», Москва). Измерение выделенной ДНК проводили на Флуориметр MAXLIFE (Россия). В работе применяли тест-системы для выявления специфического участка ДНК *Clamidia spp.* (компания ООО «ФакторМед», Москва), *Clamydophila abortus, Clamydophila pecorum* (ООО «ИзоГен», Москва), герпес вируса первого типа у крупного рогатого скота «Gen Pak DNA PSR Test BHV1» (ООО «ИзоГен», Москва), набора на определение вируса диареи крупного рогатого скота, *Mycoplasma spp.* (ООО «ИнтерЛабСервис», Москва), *M.bovis, M. bovigenitalium* (ООО "ВекторБест", Москва). Исследования проводили в режиме реального времени с применением прибора Rotor-Gene 3000 (Corbett Life Science, Австралия), QuantStudio5 (Thermo Scientific, США). Дополнительно проводили амплификацию на приборе SWIFT Maxi PROESCO (TECHNOLOGIS, INC. (USA). Электрофорезный вариант с применением агарозного геля и миникамеры Mini-Sub Cell GT (Bio-Rad, США) с визуализацией под ультрафиолетовым излучением в камере CHEMIDOC XRS+ с интерпретацией результатов с помощью гель-документации Gel Doc XR+ (Bio-Rad, США).

Бактериологические исследования биопроб от крупного рогатого скота проводили в соответствии с методическими рекомендациями «Методы бактериологического исследования условно-патогенных микроорганизмов в клинической микробиологии – МУК 4.2.1890-04».

Копрологические исследования проб биоматериалов проводили методом седиментационной и флотационной диагностики по Фюллеборну в соответствии с ГОСТ 25383-82 «Методы лабораторной диагностики кокцидиоза» и ГОСТ 54627-2011 «Методы лабораторной диагностики гельминтозов». Учет результатов исследования осуществляли на микроскопе МС 50 (“MICROS” Австрия) и на системном микроскопе BX43 («Olympus» Япония).

Исследование проб фекалий от крупного рогатого скота проводили методом седиментационной и флотационной диагностики по Фюллеборну в соответствии с ГОСТ 25383-82 «Животные сельскохозяйственные. Методы лабораторной диагностики кокцидиоза» и ГОСТ 54627-2011 «Животные сельскохозяйственные жвачные. Методы лабораторной диагно-

стики гельминтозов». Лабораторную диагностику криптоспоридиоза осуществляли в мазках проб фекалий, полученных центрифужно-флотационным методом с применением раствора Бреза, с последующим окрашиванием по Циль-Нильсену с карболовым фуксином. Учет результатов исследования осуществляли на микроскопе МС 50 (“MICROS” Австрия) и на системном микроскопе BX43 («Olympus» Япония).

Достоверность результатов подтверждали путем статистической обработки и определения различий средних значений с помощью критерия Стьюдента. Результаты считали достоверными при $P<0,05$. Для обработки полученных данных использовали программу Microsoft Excel, входящую в пакет программ Microsoft Office Pro.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Агропромышленный комплекс Свердловской области по содержанию крупного рогатого скота представлен животноводческими предприятиями (74%), крестьянско-фермерскими хозяйствами (10%) и личными подсобными хозяйствами (16%). Общая численность поголовья крупного рогатого скота в субъекте РФ составляет более 253 тысяч голов. По материалам ветеринарной отчетности и статистическим данным Департамента ветеринарии Свердловской области за период 2018-2021 гг. вакцинопрофилактика ОРВИ в популяциях крупного рогатого скота осуществлялась более чем в 82% сельскохозяйственных организаций разных форм собственности (рис.1).

Распределение, применяемых в схемах лечебно-профилактических и оздоровительных мероприятий по защите животных от ОРВИ КРС в сельскохозяйственных организациях Свердловской области, вакцин по происхождению антигена представлено на рисунке 2.

В основном в схемах вакцинопрофилактики ОРВИ КРС используются инактивированные комбинированные препараты: «Комбовак», «Комбовак А», «Комбовак Р» (Россия) в 37% случаев; «Hiprabovis-4» (Испания) – в 28% случаев [3]. Применение вакцин, содержащих аттенуированные штаммы возбудителей, было продиктовано необходимостью защиты поголовья в хозяйствах с напряжённой или неблагополучной эпизоотологической ситуацией по ОРВИ КРС.



Рисунок 1 – Вакцинопрофилактика ОРВИ крупного рогатого скота в сельскохозяйственных организациях Свердловской области (2018-2021 гг.)

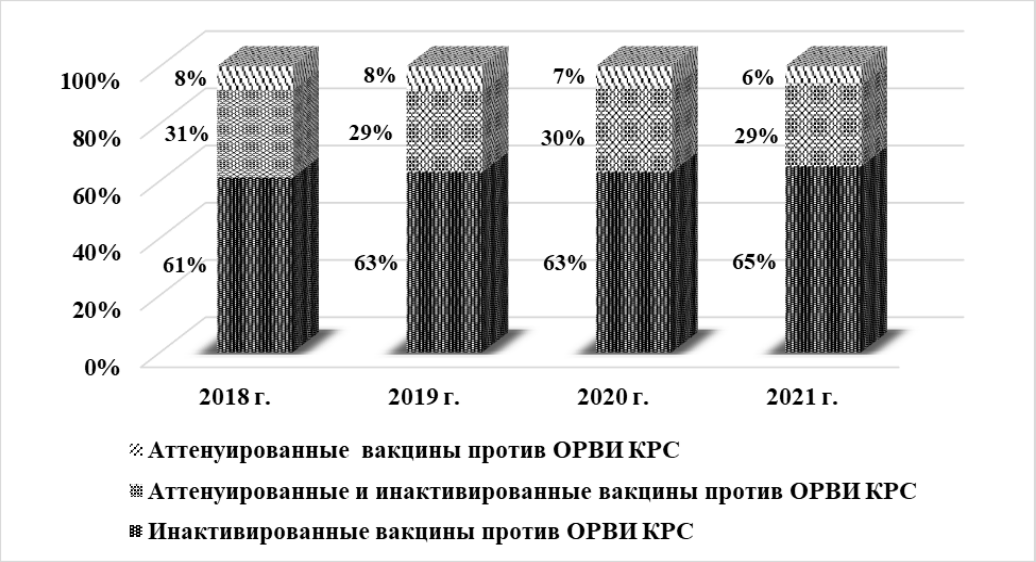


Рисунок 2 – Вакцины против ОРВИ КРС по происхождению антигена, применяемые в СХО Свердловской области (2018-2021 гг.)



Рисунок 2 – Вакцины против ОРВИ КРС по происхождению антигена, применяемые в СХО Свердловской области (2018-2021 гг.)



Рисунок 3 – Вакцинопрофилактика ОРВИ крупного рогатого скота в животноводческих предприятиях Свердловской области (n=37)

Оценка эффективности вакцинопрофилактики ОРВИ была проведена в сельскохозяйственных организациях (n=37) Южного, Западного, Восточного управленческих округов Свердловской области. Установлено, что длительное эпизоотическое благополучие по ОРВИ КРС в обследованных животноводческих предприятиях привело в 35,1% случаев к поверхностному выполнению мероприятий вакцинопрофилактики; в 13,5% случаев к снижению качества зоогигиенических и ветеринарно-санитарных условий содержания крупного рогатого (рис. 3).

Анализ результатов серологического скрининга на напряженность поствакцинального иммунитета к ОРВИ КРС показал, в обследованных популяциях животных, принадлежащих СХО (48,6%) с различными нарушениями вакцинопрофилактических и оздоровительных мероприятий регистрируется увеличению доли иммунотолерантных к вакцинам против ОРВИ или с низкой иммунореактивностью особей. Среди взрослого поголовья отмечали увеличение доли на 2,8%, например, в 2018 году – 2,1%; в 2019 году – 3,9%. У таких животных диагностировали низкую иммунореактивность в отношении вакцинных антигенов ИРТ КРС и ВД КРС – титр поствакцинальных антител составлял ≤ 2,0 log2. Доля особей иммунотолерантных или с низкой иммунореактивностью среди молодняка крупного рогатого скота увеличилась в среднем на 2,5%. Необходимо отметить, что низкая иммунореактивность у таких телят диагностировалась не только в отношении вакцинных антигенов ИРТ КРС и ВД КРС, но и антигенов ПГ-3 КРС и РСИ КРС.

Изучение антигенного пейзажа при респираторно-кишечных заболеваниях у молодняка из обследованных СХО показало, что у животных, подвергавшихся планомерной и активной вакцинопрофилактике, инфекционные возбудители определяются в 38,8% случаев: вирусы

группы ОРВИ и группы ОКИ – в 13,6%; патогенные микроорганизмы и простейшие – 25,2% (рис. 4). Ассоциации антигенов регистрировали у 10,2% особей: «Вирусы ОКИ (ротавирус, коронавирус) + Бактерии (Staphylococcus spp., гемолизирующая E. coli.) + Простейшие (E. bovis)». Методом ПЦР геномы возбудителей (ИРТ КРС и ВД КРС, Clamidia spp., Clamydophila abortus, Clamydophila pecorum, Mycoplasma spp., M.bovis, M. bovigenitalium) не были выявлены в биоматериалах.

В сельскохозяйственных организациях при нарушениях схем и графиков вакцинопрофилактики ОРВИ КРС в антигенном пейзаже возбудителей респираторно-кишечных заболеваний молодняка регистрировали увеличения в 3,6 раза суммарной доли вирусов групп ОРВИ и ОКИ; в 1,6 раза – доли патогенных микроорганизмов и простейших. В 31,2% случаев выявлены ассоциации возбудителей «Вирусы ОРВИ (ИРТ, ВД, ПГ-3) + Бактерии (*Staphylococcus spp*., гемолизирующая *E. coli.*) + Вирусы ОКИ (ротавирус, коронавирус) + Микроскопические грибы (*Candida albicans)* + Простейшие (*E. bovis*)». Молекулярно-генетическими методами (ПЦР) было установлено наличие, в биоматериалах отбранных у молодняка, специфических участков ДНК герпесвируса певого типа в 1,4% случаев и РНК вируса диареи КРС - в 2,3% случаев. Геномы *Clamidia spp., Clamydophila abortus, Clamydophila pecorum, Mycoplasma spp., M.bovis, M. bovigenitalium* не были выявлены в биоматериалах.

Максимальное увеличение доли патогенных микроорганизмов и простейших

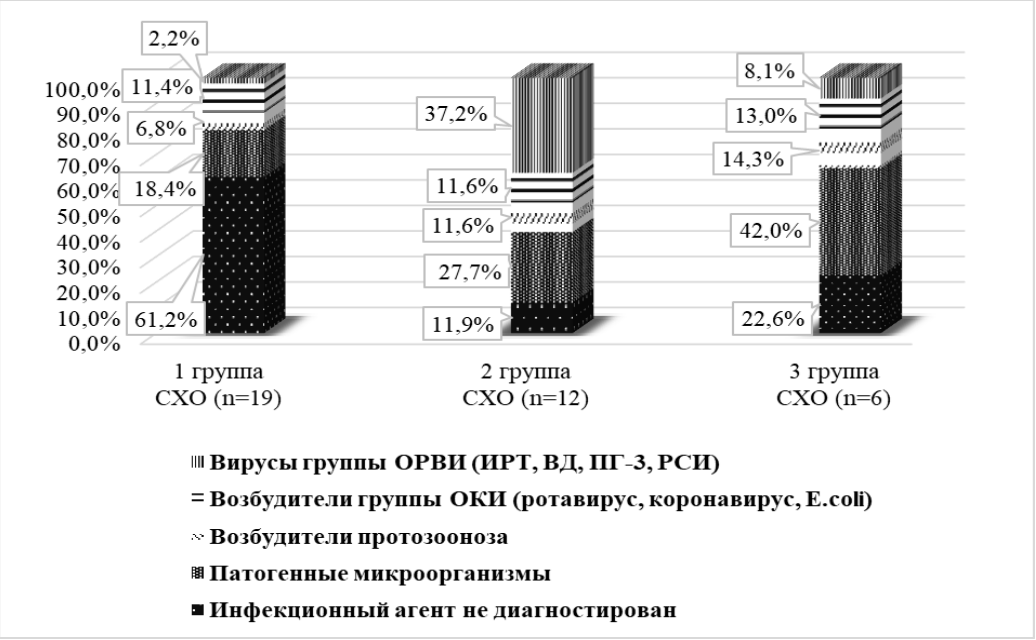


Рисунок 4 – Антигенный пейзаж возбудителей при респираторно-кишечных заболеваниях у молодняка крупного рогатого скота в сельскохозяйственных Свердловской области: 1 группа СХО – «Вакцинопрофилактика ОРВИ КРС выполнена в полном объёме»; 2 группа СХО – «Нарушения схем и графиков вакцинопрофилактики ОРВИ КРС; 3 группа СХО – «Нарушение зоогигиенических и ветеринарно-санитарных условий содержания животных».

в антигенном пейзаже возбудителей при респираторно-кишечных заболеваниях у молодняка крупного рогатого скота отмечалось в СХО при нарушениях зоогигиенических и ветеринарно-санитарных условий содержания. Ассоциации возбудителей в 32,4% случаев: «Вирусы ОРВИ (ПГ-3) + Вирусы ОКИ (ротавирус, коронавирус) + Бактерии (*Staphylococcus spp*., *Streptococcus spp.,* гемолизирующая *E. coli.*) + Микроскопические грибы (*Candida albicans, Aspergillus)* + Простейшие (*E. bovis, Cryptosporidium*)». Молекулярно-генетическими методами (ПЦР) были выявлены в 2,5% случаев вирус ИРТ КРС, в 6,9% случая вирус ВД КРС. Геномы *Clamidia spp., Clamydophila abortus, Clamydophila pecorum, Mycoplasma spp., M.bovis, M. bovigenitalium* не были выявлены в биоматериалах.

В ранее выполненных научно-производственных исследованиях (Шкуратова И.А., Шилова Е.Н., Петрова О.Г., Порываева А.П., 2017-2020 гг.) было установлено, что нарушения схем и графиков вакцинопрофилактики создают условия для циркуляции возбудителей ОРВИ КРС в популяции животных; увеличивается риск формирования локальных групп животных-вирусоносителей [1, 7, 8, 11, 16]. При снижении качества и нарушениях зоогигиенических и ветеринарно-санитарных условий содержания происходят изменения видового и долевого состава антигенного пейзажа возбудителей, что повышает уровень патогенной нагрузки на организм и способствует истощению адаптационного резерва у животных. Проведенные научные исследования и научно-производственное сотрудничество с животноводческими предприятиями Свердловской области доказали необходимость разработки и использования в ветеринарной практике СХО индивидуальных программ вакцинации поголовья крупного рогатого скота против ОРВИ [5, 7, 10].

Индивидуальные программы вакцинации против ОРВИ крупного рогатого скота разрабатывали с учетом эпизоотологической ситуации в сельскохозяйственной организации. Эффективность разработанных индивидуальных программ вакцинации против ОРВИ изучали на ограниченных популяциях крупного рогатого скота сельскохозяйственных организаций Южного, Западного, Восточного управленческих округов Свердловской области (n=10). В 60% сельскохозяйственных организаций против ОРВИ крупного рогатого скота применяли вакцину «Hiprabovis-4» производства «Laboratorios Hipra», Испания. В 40% сельскохозяйственных организаций поголовье вакцинируют препаратом «Комбовак» производства ООО «Ветбиохим», Россия. Сравнительный анализ результатов серологического скрининга в разных половозрастных группах крупного рогатого скота не выявил достоверных различий в показателях напряженности поствакцинального иммунитета к возбудителям ОРВИ у животных, вакцинированных «Hiprabovis-4» и у животных, вакцинированных препаратом «Комбовак» (табл.1).

При планомерной и активной вакцинации в соответствии с разработанными индивидуальными программами средний титр антител у молодняка к вирусу ИРТ составлял 3,5±0,6 log2; к вирусу ВД-БС – 3,3±0,4 log2; к вирусу ПГ-3 – 6,8±1,1 log2; к вирусу РСИ – 5,0±0,4 log2. Доля иммунотолерантных телят и телят с низким уровнем иммунореактивности в обследованных СХО не превышала 2,5±0,75%. У взрослого поголовья (нетели, коровы) средний титр антител к вирусу ИРТ составлял 5,2±0,8 log2; к вирусу ВД-БС – 5,0±0,5 log2; к вирусу ПГ-3 – 9,3±0,9 log2; к вирусу РСИ – 7,1±0,4 log2. Доля иммунотолерантных коров и коров с низким уровнем иммунореактивности в обследованных СХО – 1,0±0,25%. С учетом эпизоотической ситуации по заболеванию молодняка крупного рогатого скота острыми кишечными инфекциями (2017г.) 2 сельскохозяйственным организациям в индивидуальные программы вакцинации в 2018 году наряду с применением «Hiprabovis-4» была включена вакцинация стельных коров и нетелей препаратом

Таблица 1 – Напряженность поствакцинального иммунитета к возбудителям ОРВИ у крупного рогатого скота, принадлежащего сельскохозяйственным организациям Свердловской области (по результатам серологических исследований в РНГА, РТГА)

Антиген / минимальный протективный титр антител*	Титр поствакцинальных антител в сыворотке крови крупного рогатого скота (через 30 дней после вакцинации против ОРВИ КРС)					
	Молодняк крупного рогатого скота, возраст 2,5-3 месяца		Молодняк крупного рогатого скота, возраст 13-14 месяцев		Взрослое поголовье крупного рогатого скота	
	Вакцина «Комбовак» n=67	Вакцина «Hiprabovis» n=82	Вакцина «Комбовак» n=49	Вакцина «Hiprabovis» n=61	Вакцина «Комбовак» n=104	Вакцина «Hiprabovis» n=95
ИРТ **3 log_2***	3,3±0,3 log_2	3,4±0,7 log_2	5,0±0,3 log_2	5,1±0,3 log_2	5,3±0,5 log_2	5,2±0,4 log_2
ВД **3 log_2**	3,2±0,1 log_2	3,4±0,3 log_2	4,9±0,1 log_2	4,8±0,4 log_2	4,9±0,7 log_2	5,1±0,3 log_2
ПГ-3 **4 log_2**	6,5±0,7 log_2	6,7±0,4 log_2	8,7±0,3 log_2	8,7±0,4 log_2	9,3±0,5 log_2	9,6±1,1 log_2
РСИ **4 log_2**	5,3±0,3 log_2	5,2±0,5 log_2	6,0±0,3 log_2	5,9±0,3 log_2	7,2±0,5 log_2	7,4±0,6 log_2

**«Минимальный протективный титр антител» в соответствии с инструкциями к наборам.*

«Ротавек® Корона» производства «Burgwedel Biotech GmbH», Германия в соответствии с инструкцией производителя.Динамика заболеваний молодняка в обследуемых СХО в период реализации разработанных программ вакцинации представлена на рисунках 5 и 6.

Как видно из представленных на диаграммах данных коррекция индивидуальных программ вакцинации и их реализация в период 2018-2019 года позволила снизить заболеваемость молодняка крупного рогатого скота острыми кишечными инфекциями в обследуемых СХО в среднем в 1,5 раза по сравнению с уровнем заболеваемости ОКИ в 2017 году. Необходимо также отметить, что уровень заболеваний респираторного тракта снизился в среднем на 3%, а уровень заболеваний незаразной этиологии снизился на 1,7% только у молодняка, принадлежащего СХО-1. В последующий период наблюдения (2020-2021 гг.) динамика показателей заболеваний молодняка крупного рогатого скота в обследуемых СХО оставалась стабильной. Заболевания незаразной этиологии регистрировались на уровне 7,3-8,1%; заболевания респираторного тракта – 10,3-11,5%; заболевания желудочно-кишечного тракта – 15,3-15,7%.

Результаты исследований напряженности поствакцинального иммунитета к ОРВИ у телят до и после коррекции индивидуальных программ вакцинации представлены на рисунке 7.

В период 2016-2017 гг. до коррекции индивидуальных программ вакцинации доля иммунотолерантных телят и телят с низким уровнем иммунореактивности составляла в СХО-1 9,8%, в СХО-2 – 10,5%. В период реализации скорректированных индивидуальных программ (2018-2020 гг.) наблюдалась тенденция к уменьшению численности таких животных в 2,7-2,8 раза по сравнению с показателями 2016-2017 годов. В 2020 году численность иммунотолерантных телят и телят с низким уровнем иммунореактивности в условиях вакцинации против ОРВИ КРС не превышала 4%.

Таким образом, вакцинация поголовья крупного рогатого скота против ОРВИ по индивидуальным программам в обследованных сельскохозяйственных организациях обеспечивала формирование специфического популяционного иммунитета у 92,5-95,0% животных.

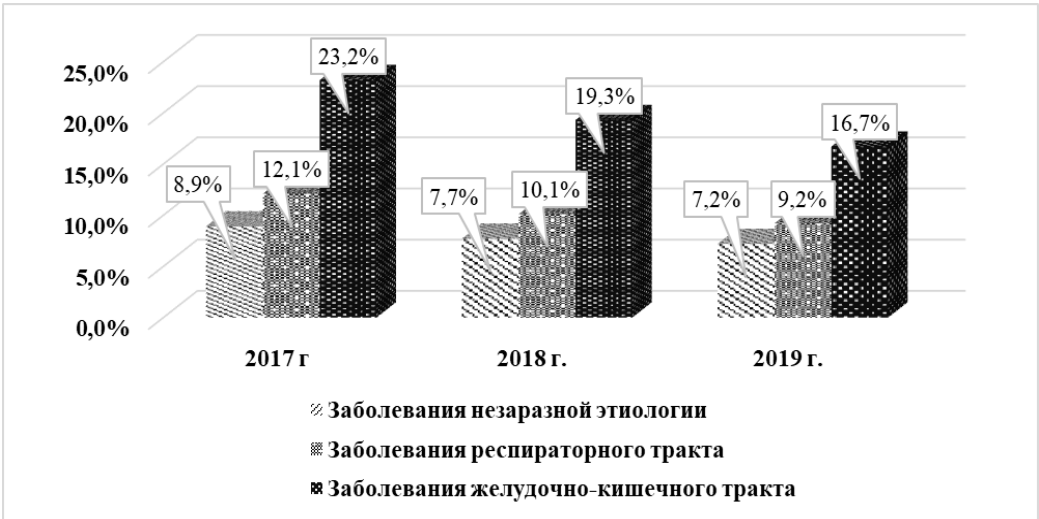


Рисунок 5 – Показатели заболеваний молодняка крупного рогатого скота в условиях коррекции индивидуальной программы вакцинации (СХО-1, Южный управленческий округ Свердловская область)

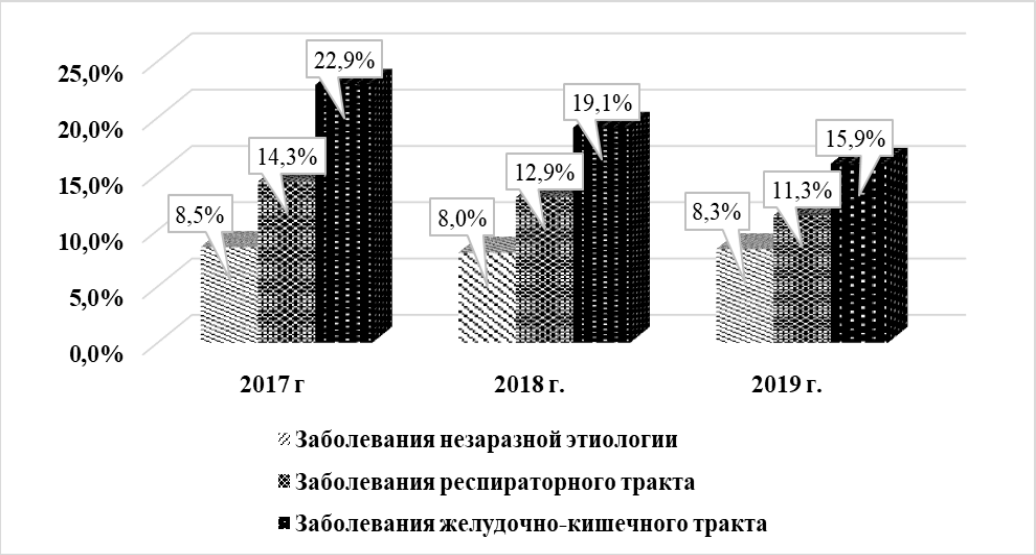


Рисунок 6 – Показатели заболеваний молодняка крупного рогатого скота в условиях коррекции индивидуальной программы вакцинации (СХО-2, Западный управленческий округ Свердловская область)

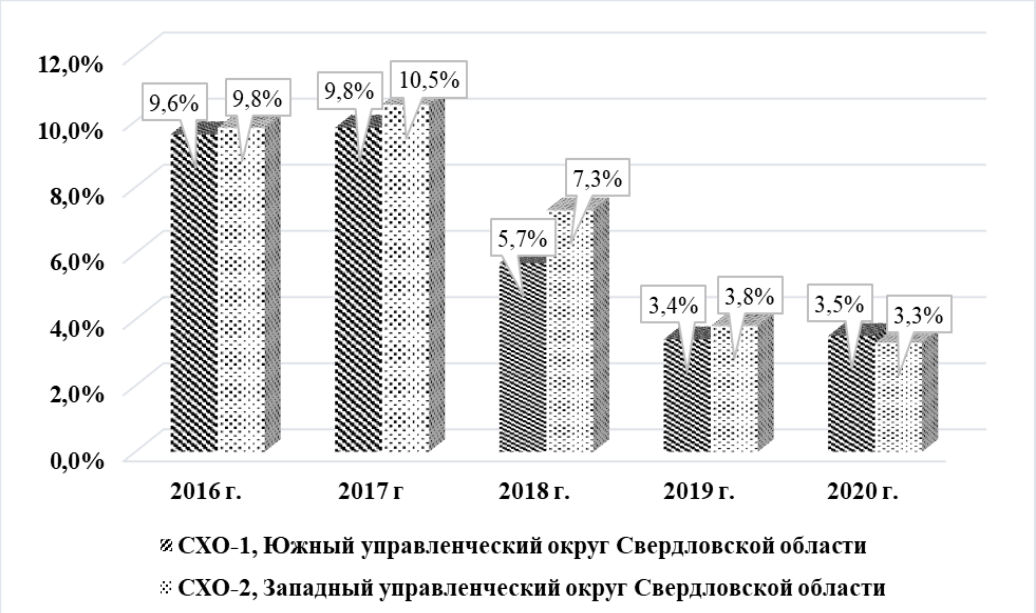


Рисунок 7 – Динамика изменения доли иммунотолерантных телят и телят с низким уровнем иммунореактивности в условиях коррекции индивидуальных программ вакцинации против ОРВИ КРС.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Биологическое благополучие сельскохозяйственных животных в современных условиях ведения животноводства обеспечивается сложным комплексом ветеринарно-санитарных и зоогигиенических технологий [5, 9, 11]. Реализация задач ветеринарной науки и практики по оздоровлению и защите популяций животных от эпизоотически значимых болезней невозможна без создания и внедрения научно-обоснованных программ лечебно-профилактических и оздоровительных мероприятий [1, 6, 14]. В многочисленных исследованиях показано, что эпизоотическое благополучие популяции сельскохозяйственных животных, районированных на конкретной территории, представляет собой одну из важных составляющих в этом комплексе [2, 4, 8, 15]. Разработка и внедрении в ветеринарную практику комплексных программ особенно актуально при оздоровительных мероприятиях по защите животных от эпизоотически значимых управляемых инфекционных болезней таких как ОРВИ КРС.

Выполненные в сельскохозяйственных организациях Свердловской области в 2017-2021 гг. исследования показали, что эффективность вакцинопрофилактики ОРВИ зависит от комплекса факторов. Так при нарушениях схем вакцинопрофилактики в антигенном пейзаже возбудителей заболеваний отмечается увеличения в 3-3,5 раза доли вирусов групп ОРВИ и ОКИ; в 1,6 раза – доли патогенных микроорганизмов и простейших. При нарушениях зоогигиенических и ветеринарно-санитарных условий содержания регистрируется максимальное увеличение доли (до 56,3%) патогенных и условно-патогенных микроорганизмов и простейших в антигенном пейзаже возбудителей при респираторно-кишечных заболеваниях у молодняка крупного рогатого скота. При выполнении мероприятий по вакцинопрофилактике ОРВИ в полном объёме суммарная доля патогенных возбудителей заболеваний составляет 35-38%. Доля вирусов групп ОРВИ и ОКИ не превышает уровня 14%. Изменения видового и долевого состава антигенного пейзажа возбудителей приводит к повышению патогенной нагрузки на организм и истощению адаптационного резерва у животных, что в свою очередь увеличивает численность иммунотолерантных особей и особей с низким уровнем иммунореактивности до 10,5% в популяции. Как известно, наличие таких иммунокомпроментированных животных создаёт условия для циркуляции возбудителей ОРВИ в популяции и способствует формированию локальных групп животных-вирусоносителей [4, 6, 12, 13, 16].

При оценке эффективности индивидуальных программ вакцинации крупного рогатого скота против ОРВИ, разработанных с учетом эпизоотической ситуации в сельскохозяйственных организациях, было получены следующие данные. В обследованных СХО зарегистрировано формирование специфического поствакцинального иммунитета против ОРВИ у 92,5-95,0% животных. Отмечено сокращение числа иммунотолерантных особей и особей с низким уровнем иммунореактивности в физиологической группе «Молодняк крупного рогатого скота в 2,7 -2,8 раза (до 3,5% от числа обследованных животных). Кроме того, отмечено снижение заболеваемости молодняка крупного рогатого скота острыми кишечными инфекциями в обследуемых СХО в среднем в 1,5 раза по сравнению с уровнем заболеваемости ОКИ в 2017 году, респираторными заболеваниями – 1,3 раза.

Таким образом, выполненные исследования подтвердили высокую эффективность усовершенствованных научно-обоснованных программам лечебно-профилактических и оздоровительных мероприятий по защите животных от эпизоотически значимых управляемых инфекционных болезней (ОРВИ КРС) среди популяций сельскохозяйственных животных Уральского Федерального Округа. Полученные научные данные используются в качестве теоретической основы для создания и внедрения программ мониторинга, диагностики, лечебно-

профилактических и оздоровительных мероприятий по защите животных от инфекционных заболеваний.

MONITORING OF EPIZOOTICALLY SIGNIFICANT INFECTIOUS DISEASES OF ANIMALS

Poryvaeva A.P.* – doctor of biological sciences; **Pechura E.V. –** candidate of veterinary sciences; **Petrova O.G**. – doctor of veterinary sciences; **Bezborodova N.A. –** candidate of veterinary sciences; **Lysova Y.Yu. –** researcher; **Belousova D.A. –** postgraduate student

Ural Federal Agrarian Research Center Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (Russia, Yekaterinburg)

*app1709@inbox.ru

ABSTRACT

The aim of the work was to assess the effectiveness of an improved monitoring program for controlled infectious animal diseases and individual vaccination programs for acute respiratory viral infection in cattle. To fulfill the tasks set, serological studies, PCR diagnostics, bacteriological and coprological methods of examining biological samples from animals were carried out. As a result of the work, the main factors influencing the effectiveness of vaccine prophylaxis of acute respiratory viral infection in cattle populations have been identified. It was found that in three administrative and administrative districts of the Sverdlovsk region, the main factors in 35.1% of cases are violations of the rules of vaccination of acute respiratory viral infection of cattle, in 13.5% of cases - violations of zoohygienic and veterinary–sanitary conditions of keeping farm animals. A comprehensive assessment of the effectiveness of individual vaccination programs for cattle against acute respiratory viral infection has been carried out, taking into account the epizootological situation in agricultural organizations. It was shown that vaccination of cattle against acute respiratory viral infection according to individual programs ensured the formation of specific immunity in 92.5-95.0% of animals. The number of immunotolerant individuals and animals with a low level of immunoreactivity in the physiological group of young cattle did not exceed 3.5%, in the physiological group of adult animals – 1.25%. The high efficiency of improved scientifically based programs for monitoring, diagnosis, therapeutic, preventive and health measures to protect animals from epizootically significant infectious diseases of cattle among the populations of farm animals of the Ural Federal District has been confirmed.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Алексеев А.Д., Петрова О.Г., Дроздова Л.И. Особенности проявления острых респираторных вирусных инфекций крупного рогатого скота в современных условиях// Аграрный вестник Урала. – 2015. – № 6(136). – С. 38-40.

2.Безбородова Н.А., Кожуховская В.В. Значение молекулярно-биологических методов исследования для диагностики инфекционных болезней крупного рогатого скота // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2018. – № 4 (40). – С. 22-25.

3.Белоусова Д.А., Клёпова Ю.В., Порываева А.П., Печура Е.В., Нурмиева В.Р. Вакцинопрофилактика респираторных вирусных заболеваний крупного рогатого скота // БИО. – 2021 - № 7. – С. 10-15.

4.Глотов А.Г. Глотова Т.И. Роль возбудителей вирусной диареи – болезни слизистых оболочек в этиологии респираторной патологии крупного рогатого скота// Ветеринария. – 2017. – № 6. – С. 3-12.

5.Гулюкин М.И., Юров К.П., Караваев Ю.Д. и др. Система ветеринарно-санитарных, профилактических и лечебных мероприятий против инфекционных болезней крупного рогатого скота в хозяйствах Российской Федерации. // М. - 2007. - С. 14.

6.Донник И.М., Петрова О.Г., Марковская С.А. Острые респираторные заболевания крупного рогатого скота и проблемы профилактики в современных условиях промышленного производства // Аграрный вестник Урала. – 2013. – № 10 (116). – С.25-27.

7.Петрова О.Г., Донник И.М., Шкуратова И.А. и др. Комплексная программа по оздоровлению хозяйств от смешанных вирусо-бактериальных инфекций крупного рогатого скота. // Екатеринбург, 2006. - С. 21.
8.Печура Е.В., Петрова О.Г., Порываева А.П., Безбородова Н.А., Кожуховская В.В. Значение лабораторных исследований в системе эпизоотологической характеристики и оптимизации эпизоотологического надзора за острыми респираторными вирусными инфекциями крупного рогатого скота // Ветеринарный фармакологический вестник. 2020. № 4 (13). С. 151-158.
9.Порываева А.П., Красноперов А.С., Томских О.Г., Лысова Я. Ю. Модель оценки риска развития осложнений при диспепсии у телят в неонатальный период // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2019. – № 3. – С. 17-24.
10.Порываева А.П., Петрова О.Г., Печура Е.В., Безбородова Н.А., Лысова Я.Ю. Значение комплексной лабораторной диагностики ОРВИ крупного рогатого скота для ветеринарной практики // Аграрный вестник Урала. 2020. № 05 (196). С. 59-67.
11.Порываева А.П., Шилова Е.Н., Шкуратова М.В., Ряпосова М.В., Соколова О.В., Халтурина Л.В., Печура Е.В., Томских О.Г., Верещак Н.А., Нурмиева В.Р., Клепцина А.В. Комплексная программа биологической защиты и оздоровления сельскохозяйственных организаций от вирусной диареи крупного рогатого скота // Научно -методические рекомендации, ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН -Екатеринбург - 2019. – С. 44.
12.Шаньшин Н.В., Евсеева Т.П. Напряженность поствакцинального иммунитета к вирусу Пг-3, ИРТ, ВД-БС крупного рогатого скота в зависимости от иммуногенных свойств вакцин // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2018. - №4 (162). – С. 140-145.
13.Шилова Е.Н., Климова Л.А., Вялых И.В., Кадочников Д.М., Тарасов М.И. Применение инактивированной вакцины «Хипрабовис-4» для профилактики ОРВИ в хозяйствах Свердловской области // Ветеринария. – 2014. - №11. – С. 15-17.
14.Шкуратова И.А., Шилова Е.Н., Соколова О.В. Ветеринарно-санитарные аспекты профилактики болезней молодняка крупного рогатого скота в современных промышленных комплексах// Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2015.– № 3 (15). – С. 60-63.
15.Poryvaeva A., Pechura E., Shkuratova I. Preventind respiratoru viral infections in calves during prenatal and early neonatal periods // Reproduction in Domestic Animals. – 2019. – Т. 54. – № S3. – P. 98.
16.Shilova E.N., Vyalykh I.V. Clinical implications of bovine viral diarrhoea in breeding enterprises of the Ural region // Science & Education. – 2013. – Vol. 22. - №1. - P. 179-182.
17.Sokolova O.V., Shilova E.N., Ryaposova M.V. The use of marker vaccines against ibr to control reproduction of dairy herds // Reproduction in Domestic Animals. – 2019. – Т. 54. – № S3. – P. 104.

REFERENCES

1.Alekseev A.D., Petrova O.G., Drozdova L.I. Features of the manifestation of acute respiratory viral infections of cattle in modern conditions// Agrarian Bulletin of the Urals. – 2015. – № 6(136). – Pp. 38-40.
2.Bezborodova N.A., Kozhukhovskaya V.V. The importance of molecular biological research methods for the diagnosis of infectious diseases of cattle // Current issues of veterinary biology. – 2018. – № 4 (40). – Pp. 22-25.
3.Belousova D.A., Klepova Y.V., Poryvaeva A.P., Pechura E.V., Nurmieva V.R. Vaccination of respiratory viral diseases of cattle // BIO. – 2021 - No. 7. – pp. 10-15.
4.Glotov A.G. Glotova T.I. The role of pathogens of viral diarrhea – diseases of the mucous membranes in the etiology of respiratory pathology of cattle// Veterinary medicine. - 2017. – No. 6. – p. 3-12.
5.Gulyukin M.I., Yurov K.P., Karavaev Yu.D. and others. The system of veterinary and sanitary, preventive and curative measures against infectious diseases of cattle in farms of the Russian Federation. // M. -

2007. - p. 14.
6.Donnik I.M., Petrova O.G., Markovskaya S.A. Acute respiratory diseases of cattle and problems of prevention in modern conditions of industrial production // Agrarian Bulletin of the Urals. – 2013. – № 10 (116). – Pp.25-27.
7.Petrova O.G., Donnik I.M., Shkuratova I.A., etc. A comprehensive program for the rehabilitation of farms from mixed viral and bacterial infections of cattle. // Yekaterinburg, 2006. - p. 21.
8.Pechura E.V., Petrova O.G., Poryvaeva A.P., Bezborodova N.A., Kozhukhovskaya V.V. The importance of laboratory research in the system of epizootological characteristics and optimization of epizootological supervision of acute respiratory viral infections of cattle // Veterinary Pharmacological Bulletin. 2020. No. 4 (13). pp. 151-158.
9.Poryvaeva A.P., Krasnoperov A.S., Tomskikh O.G., Lysova Ya. Yu. A model for assessing the risk of complications in dyspepsia in calves in the neonatal period // Veterinary medicine of farm animals. – 2019. – No. 3. – pp. 17-24.
10.Poryvaeva A.P., Petrova O.G., Pechura E.V., Bezborodova N.A., Lysova Ya.Yu. The importance of complex laboratory diagnostics of bovine ARVI for veterinary practice // Agrarian Bulletin of the Urals. 2020. No. 05 (196). pp. 59-67.
11.Poryvaeva A.P., Shilova E.N., Shkuratova M.V., Ryaposova M.V., Sokolova O.V., Khalturina L.V., Pechura E.V., Tomskikh O.G., Vereshchak N.A., Nurmieva V.R., Kleptsina A.V. Comprehensive program of biological protection and rehabilitation of agricultural organizations from viral diarrhea of cattle // Scientific and methodological recommendations, FGBNU Urfanits Ural Branch of the Russian Academy of Sciences - Yekaterinburg - 2019. – p. 44.
12.Shanshin N.V., Evseeva T.P. The intensity of post-vaccination immunity to the virus Pg-3, IRT, VD-BS in cattle depending on the immunogenic properties of vaccines // Bulletin of the Altai State Agrarian University. – 2018. - №4 (162). – Pp. 140-145.
13.Shilova E.N., Klimova L.A., Vyalykh I.V., Kadochnikov D.M., Tarasov M.I. The use of inactivated Hiprabovis-4 vaccine for the prevention of acute respiratory viral infections in farms of the Sverdlovsk region // Veterinary medicine. - 2014. - No. 11. – pp. 15-17.
14.Shkuratova I.A., Shilova E.N., Sokolova O.V. Veterinary and sanitary aspects of the prevention of diseases of young cattle in modern industrial complexes// Russian Journal of Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology. – 2015.– № 3 (15). – Pp. 60-63.
15.Poryvaeva A., Pechura E., Shkuratova I. Prevention of respiratory viral infections in calves in prenatal and early neonatal periods // Reproduction in pets. – 2019. – vol. 54. – No. S3. – p. 98.
16.Shilova E.N., Vyalykh I.V. Clinical manifestations of viral diarrhea of cattle at breeding enterprises of the Ural region // Nauka i obrazovanie. – 2013. – vol. 22. - No.1. - pp. 179-182.
17.Sokolova O.V., Shilova E.N., Ryaposova M.V. The use of marker vaccines against IBD to control reproduction of dairy herds // Reproduction in domestic animals. – 2019. – vol. 54. – No. C3. – p. 104.

ИНВАЗИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК: 616.995.1:599.735.31
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.111

БИОРАЗНООБРАЗИЕ ГЕЛЬМИНТОВ ДОМАШНИХ СЕВЕРНЫХ ОЛЕНЕЙ В МУРМАНСКОЙ ОБЛАСТИ

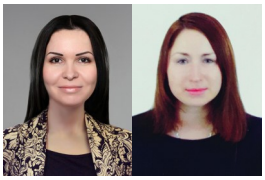
Логинова О.А. [1] * – канд. ветеринар. наук, науч. сотр. (ORCID 0000-0002-9846-0800), **Плотникова Ю.К.** [2] – доц. (ORCID 0009-0004-9242-6304).

[1] ФГБУН «Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН» (ИПЭЭ РАН)
[2] ФГАОУ ВО «Мурманский арктический университет» (МАУ)

* loginova_spb@bk.ru

Ключевые слова: *гельминты, трематоды, нематоды, северные олени, Rangifer tarandus*
Key words: *helminthes, trematodes, nematodes, reindeer, Rangifer tarandus*

Поступила: 25.09.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Мурманская область является важной частью Арктической зоны России, а оленеводство – одной и ведущих отраслей сельского хозяйства, в котором занято местное население, включая коренные малочисленные народы Севера. Успех домашнего оленеводства во многом зависит от состояния здоровья северных оленей. Поскольку предыдущее фундаментальное исследование зараженности северных оленей гельминтами было проведено советскими учеными в середине XX века, назрела необходимость в ревизии гельминтофауны. Поэтому целью нашей работы стало изучение биоразнообразия гельминтов домашних северных оленей в Мурманской области. Исследование 31 образца свежих фекалий домашних северных оленей (Rangifer tarandus) выполнено методами комплексной гельминтоскопии в соответствии с ГОСТ Р 54627-2011 «Животные сельскохозяйственные жвачные. Методы лабораторной диагностики гельминтозов»: осмотр, лярвоскопия по Вайду, флотационная овоскопия по Дарлингу, седиментационная овоскопия методом последовательных промываний, культивирование личинок паразитических нематод из яиц. Интенсивность инвазии определяли с использованием камеры ВИГИС из набора «Диапар». Обнаружены гельминты двух классов: трематод – рода Paramphistomum и нематод – отряда Strongylida (в частности, рода Ostertagia), рода Dictyocaulus и вида Elaphostrongylus rangiferi. Экстенсивность инвазии составила 26 % для Paramphistomum, 19 % для стронгилид, 3 % для Dictyocaulus и 52 % для E. rangiferi. Гельминты встречались как сами по себе, так и в ассоциациях: диктио-каулы+стронгилиды+парамфистомы, элафостронгилы+стронгилиды, элафостронгилы+парамфистомы. Среди нормальных личинок E. rangiferi попадались

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

5 марта 2020 г. указом главы государства были утверждены Основы государственной политики Российской Федерации в Арктике на период до 2035 г., в рамках которых была принята Стратегия развития Арктической зоны Российской Федерации (АЗРФ). Мурманская область является важной частью АЗРФ, а оленеводство – одной и ведущих отраслей сельского хозяйства [1], в котором занято местное население, включая коренные малочисленные народы Севера. Успех домашнего оленеводства во многом зависит от состояния здоровья северных оленей (*Rangifer tarandus*). Поскольку предыдущее фундаментальное исследование зараженности северных оленей гельминтами было проведено советскими учеными в середине XX века [2, 3], назрела необходимость в ревизии гельминтофауны оленей. Поэтому целью нашей работы стало изучение биоразнообразия гельминтов домашних северных оленей в Мурманской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Работа выполнена копрологически на материале, собранном в марте 2021 г. в Мурманской области. 31 пробу свежих фекалий домашних северных оленей (Рис. 1) упаковали в индивидуальные контейнеры и доставили в Лабораторию систематики и эволюции паразитов Центра паразитологии ФГБУН «ИПЭЭ РАН». Фекалии подвергли внешнему осмотру на наличие взрослых гельминтов или их фрагментов. Далее каждую пробу разделили на четыре порции. Первую изучали по методу Вайда на присутствие личинок паразитических нематод. Вторую – по методу Дарлинга (флотационная овоскопия) для обнаружения яиц гельминтов с низким удельным весом. Третью – методом последовательных промываний (седиментационная овоскопия) для выявления яиц с высоким удельным весом. Четвертую порцию использовали для культивирования личинок паразитических нематод. Для количественной оценки инвазии использовали камеру ВИГИС из набора «Диапар» (ВИГИС, ныне – ВНИИП им. К. И. Скрябина, Россия). Вышеописанными методами работали в соответствии с ГОСТ Р 54627-2011 «Животные сельскохозяйственные жвачные. Методы лабораторной диагностики гельминтозов» [4]. Для изучения временных препаратов использовали световой микроскоп Микмед 6 (ЛОМО, Россия) в режиме светлого поля. Фотографии обнаруженных объектов получали при помощи зеркальной фотокамеры 5D Mark II (Canon, Япония), подсоединенной к микроскопу посредством оптико-механического C-mount адаптера (ЛОМО, Россия). Определение линейных размеров гельминтов в той или иной фазе развития производили по полученным снимкам в программе Figi/ ImageJ (National Institutes of Health, США) в режиме Straight Line для яиц и Segmented Line – для личинок.



Рисунок 1 – Стадо домашних северных оленей (Мурманская область).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

При макроскопическом осмотре фекалий гельминтов обнаружено не было. В результате лярвоскопии по Вайду были выделены личинки нематод рода *Dictyocaulus* и вида *Elaphostrongylus rangiferi*. Флотационная овоскопия по Дарлингу позволила обнаружить яйца нематод стронгилидного типа, а седиментационная – яйца трематод рода *Paramphistomum*. В результате культивирования личинок из яиц нематод стронгилидного типа были получены личинки третьего возраста (L3), идентифицированные

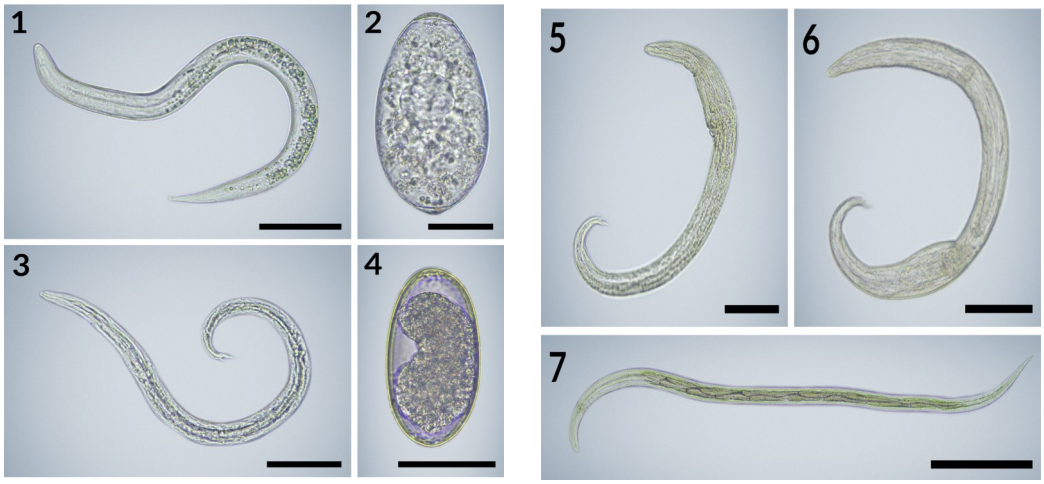


Рисунок 2 – Гельминты, обнаруженные в результате копроскопии северных оленей: 1 – личинка второго возраста нематоды рода Dictyocaulus, виден чехлик (головной конец обращен в верхний левый угол); 2 – яйцо трематоды рода Paramphistomum (оперкулярный полюс обращен наверх); 3 – личинка первого возраста нематоды вида Elaphostrongylus rangiferi (головной конец обращен в верхний левый угол); 4 – яйцо нематоды отряда Strongylida; 5 – личинка нематоды вида E. rangiferi с патологическим расширением в области нервного кольца (головной конец обращен вверх); 6 – личинка нематоды вида E. rangiferi с патологическим расширением в области полового зачатка (головной конец обращен вверх); 7 – личинка третьего возраста нематоды рода Ostertagia (головной конец обращен влево). 1–6 – деление шкалы равно 0,05 мм, увеличение объектива: 40 крат; 7 – деление шкалы равно 0,2 мм, увеличение объектива: 10 крат.

Таблица 1 – Экстенсивность инвазии северных оленей гельминтами по результатам копроскопии

Гельминты	Локализация взрослых особей в организме	Кол-во положительных проб	ЭИ, %
Нематоды отряда Strongylida, включая представителей рода *Ostertagia*	Сычуг, тонкий кишечник	6	19
Нематоды рода *Dictyocaulus*	Легкие	1	3
Нематоды вида *Elaphostrongylus rangiferi*	Центральная нервная система, межмышечная соединительная ткань	16	52
Трематоды рода *Paramphistomum*	Рубец	8	26

нами, как представители рода *Ostertagia*. Среди нормальных личинок *E. rangiferi* попадались деформированные особи: с патологическими расширениями тела в той или иной его части. Внешний вид обнаруженных гельминтов представлен на Рис. 2.

Гельминты встречались как сами по себе, так и в ассоциациях: диктиокаулы+стронгилиды+парамфистомы, элафостронгилы+стронгилиды, элафостронгилы+парамфистомы.

Интенсивность инвазии во всех случаях была низкой (единичные яйца и/или личинки). Экстенсивность инвазии (ЭИ) представлена в таблице.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Обнаруженные гельминты являются типичными для северного оленя и встречались на территории Мурманской области и ранее [2-3, 5-6]. Эти паразитические черви не представляют прямой опасности для здоровья человека. Что касается самих оленей, то наибольшей патогенностью обладают нематоды рода Dictyocaulus (паразиты дыхательной системы) и вида E. rangiferi (паразиты нервной и мышечной систем) [7]. Диктиокаулез и элафостронгилез могут приводить к большому отходу оленей [2, 8-10]. Ситуация осложняется тем, что диктиокаулез оленей (в отличие от рогатого скота) невозможно диагностировать копрологически на первом году жизни [2]. Лечение от диктиокаулеза подразумевает выполнение интратрахеальных инъекций [11], при этом животное должно быть зафиксировано в спинном положении под углом. Очевидно, что в условиях северного оленеводства такие процедуры невыполнимы и едва ли рентабельны. Животные, больные элафостронгилезом вообще не поддаются медикаментозному лечению из-за специфической локализации гельминтов (в структурах мозга и межмышечной соединительной ткани) [2, 12]. С другой стороны, мы имели возможность наблюдать за животными, спонтанно инвазированными E. rangiferi, у которых по прошествии 5 лет наблюдений прекратилось выделение личинок возбудителя с фекалиями. Учитывая, что продолжительность жизни E. rangiferi оценивается в 6 лет [2], можно аккуратно предположить естественное освобождение организма хозяина от инвазии с формированием возрастного иммунитета. Несмотря на высокое содержание личинок в фекалиях в первые годы наблюдения (с 2018-го), никаких клинических признаков болезни северные олени не демонстрировали.

Обнаружение личинок E. rangiferi с патологическими расширениями тела может свидетельствовать об их зараженности инфекционным агентом, что вполне согласуется с научными представлениями [13]. Еще К. И. Скрябин писал о различных болезнях, которым подвержены гельминты [14]. В таком случае изучение природы встреченных анатомических аномалий представляется перспективным направлением в свете разработки биологического способа борьбы с E. rangiferi.

Принимая во внимание размер выборки (31 проба фекалий) в соотношении с общей численностью поголовья домашних северных оленей в Мурманской области (десятки тысяч), авторы отдают себе отчет в том, что полученные результаты невозможно считать репрезентативными. Необходимы дополнительные исследования с отбором проб в разные сезоны и с возможностью анализа по разным половозрастным группам. Кроме того, часть гельминтов нельзя обнаружить копрологически, поэтому для полноты картины необходимы исследования методом гельминтологических вскрытий по К. И. Скрябину [15]. Такие работы уже запланированы.

BIODIVERSITY OF HELMINTHS IN DOMESTIC REINDEER IN THE MURMANSK REGION

Loginova O. A. [1 *] – PhD (Vet. Sci.), Researcher (ORCID 0000-0002-9846-0800); **Plotnikova Iu. K.** [2] – Associate Professor (ORCID 0009-0004-9242-6304).

[1] Severtsov A. N. Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences (IEE RAS)

[2] Murmansk Arctic University (MAU)

* loginova_spb@bk.ru

ABSTRACT

The Murmansk region is an important part of the Russian Arctic Zone, and reindeer husbandry there is one of the leading branches of agriculture, which employs the local population, including indigenous peoples of the North. The success of domestic reindeer husbandry largely depends on the health of the reindeer. Since the previous fundamental study of reindeer infestation with helminths was carried out by Soviet scientists in the mid-twentieth century, there is an urgent need to revise the helminth fauna. Therefore, the aim of our work was to study the biodi-

versity of helminths of domestic reindeer in the Murmansk region. The study of 31 fresh samples of domestic reindeer (Rangifer tarandus) feces was carried out using complex helminthoscopy methods in accordance with GOST R 54627-2011 "Agricultural ruminant animals. Methods of laboratory helminthology diagnostics": examination, larvoscopy according to Vajda, flotation ovoscopy according to Darling, sedimentation ovoscopy using the method of successive washings, cultivation of parasitic nematode larvae from their eggs. The intensity of invasion was determined using a VIGIS camera from the "Diapar" kit. Helminths of two classes were discovered: trematodes – the genus Paramphistomum and nematodes – the order Strongylida (in particular, the genus Ostertagia), the genus Dictyocaulus and the species Elaphostrongylus rangiferi. Prevalence rates were: 26% for Paramphistomum, 19% for strongylids, 3% for Dictyocaulus and 52% for E. rangiferi. Helminths were found both on their own and in associations: dictyocaulus + strongylids + paramphistoms, elaphostrongylids + strongylids, elaphostrongylids + paramphistoms. Among the normal larvae of E. rangiferi, there were deformed individuals: with pathological swellings in different parts of their bodies. The intensity of invasion in all cases was low.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Данилов, П. И. Северный олень Восточной Фенноскандии / П. И. Данилов, Д. В. Панченко, К. Ф. Тирронен. – Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2020. – 187 с.

2. Мицкевич, В. Ю. Гельминты северного оленя и вызываемые ими заболевания / В. Ю. Мицкевич. – Л.: Колос, 1967. – 308 с.

3. Прядко, Э. И. Гельминты оленей / Э. И. Прядко. – Алма-Ата: Наука, 1976. – 224 с.

4. ГОСТ Р 54627-2011. Животные сельскохозяйственные жвачные. Методы лабораторной диагностики гельминтозов. Agricultural ruminant animals. Methods of laboratory helminthology diagnostics : национальный стандарт Российской Федерации : издание официальное : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 12 декабря 2011 г. N 774-ст : введен впервые : дата введения 2013-01-01 / разработан Государственным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт гельминтологии им. К.И. Скрябина» Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ «ВИГИС» Россельхозакадемии). – Москва: Стандартинформ, 2013. – 10 с.

5. Tryland, M. Reindeer and Caribou. Health and Disease / M. Tryland, S. J. Kutz. – Boca Raton – London – New York: CRC Press (Taylor and Francis Group), 2019. – 533 pp.

6. Gastrointestinal parasites in reindeer (Rangifer tarandus tarandus): A review focusing on Fennoscandia / P. Jokelainen, B. Moroni, E. Hoberg [et al.] // Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports. – 2019. – Vol. 17. – P. 1–6. doi 10.1016/j.vprsr.2019.100277.

7. Elaphostrongylus and Dictyocaulus infections in Norwegian wild reindeer and red deer populations in relation to summer pasture altitude and climate / K. Handeland, R. K. Davidson, H. Viljugrein [et al.] // IJP: Parasites and Wildlife. – 2019. – Vol. 10. – P. 188–195. doi 10.1016/j.ijppaw.2019.09.003.

8. Handeland, K. Lethal Cerebrospinal Elaphostrongilosis in a Reindeer Calf / K. Handeland & H. S. Norberg // Journal of Veterinary Medicine, Series B. – 1992. – Vol. 39. – P. 668–671. doi 10.1111/j.1439-0450.1992.tb01220. x.

9. Handeland, K. Outbreaks of Clinical Cerebrospinal Elaphostrongylosis in Reindeer (Rangifer tarandus tarandus) in Finnmark, Norway, and their Relation to Climatic Conditions / K. Handeland & T. Slettbakk // Journal of Veterinary Medicine, Series B. – 1994. – vol. 41. – P. 407–410. doi 10.1111/j.1439-0450. 1994.tb00244. x.

10. Infection with brainworm (Elaphostrongylus rangiferi) in reindeer (Rangifer tarandus ssp.) in Fennoscandia / R. K. Davidson, T. Mørk, K. E. Holmgren [et al.] // Acta Veterinaria Scandinavica. – 2020. – Vol. 62 (# 24). doi 10.1186/s13028-020-00524-4.

11. Шумакович, Е. Е. Гельминтозы жвач-

ных животных / Е. Е. Шумакович. – М.: Колос, 1968. – 392 с.
12. Josefsen, T. D. The reindeer brain worm (Elaphostrongylus rangiferi) – biology and veterinary aspects / T. D. Josefsen & K. Handeland // Norsk Veterinærtidsskrift nr. – 2014. – Vol. 2, article number 126. – P. 202 –208, https://www.researchgate.net/ publication/273131613. Accessed on September 22, 2023. (Шведск.)
13. Hodgkin, J. A. novel bacterial pathogen, Microbacterium nematophilum, induces morphological change in the nematode C. elegans / J. Hodgkin, P. E. Kuwabara, B. Corneliussen // Current Biology. – 2000. – № 24. – pp. 1615-1618.
14. Скрябин, К. И. Основы общей гельминтологии / К. И. Скрябин, Р.-Эд. С. Шульц. – М.: Сельхозгиз, 1940. – 724 с.
15. Скрябин, К. И. Метод полных гельминтологических вскрытий позвоночных, включая человека / К. И. Скрябин. – М.: Изд. 1-го Московского Государственного Университета, 1928. – 45 с.

REFERENCES

1. Danilov PI Panchenko DV, Tirronen KF. Severnyy olen' Vostochnoy Fennoskandii [Reindeer of Eastern Fennoscandia]. Petrozavodsk: KarNTS RAN; 2020. (In Russ.)
2. Mizkewitsch VYu. Gel'minty severnogo olenya I vyzyvayemyye imi zabolevaniya [Reindeer helminths and the diseases they cause]. Leningrad: Kolos; 1967. (In Russ.)
3. Pryadko EI. Gel'minty oleney [Deer helminths]. Alma-Ata: Nauka; 1976. (In Russ.)
4. Standard P 54627-2011. Agricultural ruminant animals. Methods of laboratory helminthology diagnostics. Moscow: Standardinform; 2013. (In Russ.)
5. Tryland M, Kutz SJ, editors. Reindeer and Caribou. Health and Disease. Boca Raton – London – New York: CRC Press (Taylor and Francis Group); 2019.
6. Jokelainen P, Moroni B, Hoberg E, Oksanen A, Laaksonen S. Gastrointestinal parasites in reindeer (Rangifer tarandus tarandus): A review focusing on Fennoscandia. Vet Parasitol: Regional Studies and Reports. 2019; 17:1-6. doi 10.1016/ j.vprsr.2019.100277.
7. Handeland K, Davidson, RK, Viljugrein H, Mossing A, Meisingset EL, Heum M, Strand O, Isalsen K. Elaphostrongylus and Dictyocaulus infections in Norwegian wild reindeer and red deer populations in relation to summer pasture altitude and climate. IJP: Parasites and Wildlife; 2019, 10:188–195. doi 10.1016/j.ijppaw.2019.09.003.
Handeland K. & Norberg, HS. Lethal Cerebrospinal Elaphostrongilosis in a Reindeer Calf. J Vet Med, Series B. 1992; 39:668–671. doi 10.1111/j.1439-0450. 1992.tb01220. x.
9. Handeland K. & Slettbakk T. Outbreaks of Clinical Cerebrospinal Elaphostrongylosis in Reindeer (Rangifer tarandus tarandus) in Finnmark, Norway, and their Relation to Climatic Conditions. J Vet Med, Series B. 1994;41:407–410. doi 10.1111/j.1439-0450. 1994.tb00244. x.
10. Davidson RK, Mørk T, Holmgren KE, Oksanen A. Infection with brainworm (Elaphostrongylus rangiferi) in reindeer (Rangifer tarandus ssp.) in Fennoscandia. Acta Vet Scan. 2020;62(24). doi 10.1186/ s13028-020-00524-4.
11. Shumakowitsch EE. Gel'mintozy zhvachnykh zhivotnykh [Helminthiases of ruminants]. Moscow: Kolos; 1968. (In Russ.)
12. Josefsen TD & Handeland K. The reindeer brain worm (Elaphostrongylus rangiferi) – biology and veterinary aspects, (electronic journal). Norsk Veterinærtidsskrift nr. 2014;2 (article number 126):202–208, https://www.researchgate.net/ publication/273131613. Accessed on September 22, 2023. (in Swedish)
Hodgkin J, Kuwabara PE, Corneliussen B. A novel bacterial pathogen, Microbacterium nematophilum, induces morphological change in the nematode C. elegans. Cur Biol. 2000; 24:1615–1618.
14. Skrjabin KI, Schultz R-EdS. Osnovy obshchey gel'mintologii [Basics of Fundamental Helminthology]. Moscow: Selkhozgiz; 1940. (In Russ.)
15. Skrjabin KI. Metod polnykh gel'mintologicheskikh vskrytiy pozvonochnykh, vklyuchaya cheloveka [Method of complete helminthological dissections of vertebrates, including humans]. Moscow: 1st Moscow State University; 1928. (In Russ).

УДК: 619:576.895.42(470.630)
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.4.117

МОНИТОРИНГ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ КЛЕЩЕВОЙ ИНВАЗИИ НА ТЕРРИТОРИИ Г. СТАВРОПОЛЬ

Проскурин Д.А. * – асп. каф. паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы, анатомии и патанатомии им. профессора С. Н. Никольского (ORCID: 0009-0004-0524-5354), **Дилекова О.В.** – д-р биол. наук, доц., зав. каф. паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы, анатомии и патанатомии им. профессора С. Н. Никольского (0000-0003-0247-8633).

ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет»

* pro.kish@mail.ru

Ключевые слова: *Dermacentor, Ixodes, иксодовые клещи, самки клеща, эктопаразиты, мониторинг, эпизоотология, паразитология, г. Ставрополь.*
Key words: *Dermacentor, Ixodes, ticks, female ticks, ectoparasites, monitoring, epizootology, parasitology, Stavropol.*

Благодарности: *работа выполнена при поддержке АС "Фонд-М" - Фонд содействия инновациям РФ, Программа «УМНИК», Договор 18278ГУ/2022 от 26.12.2022.*

Поступила: 27.09.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Иксодовые клещи являются одной из наиболее важных проблем для России, в связи с большим количеством лесных массивов и полевых угодий. Данная проблема актуальна также и для урбанизированных территорий, особенно для южных регионов страны, где клещи имеют повсеместное распространение. Исследования проводились на базе кафедры паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы, анатомии и патанатомии им.проф. С.Н. Никольского и на Научно-диагностическом и лечебном ветеринарном центре ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», а также на базе ветеринарных клиник ИП Заиченко «Ветеринарный центр им. Пирогова». Объектом для исследования послужили иксодовые клещи родов Dermacentor и Ixodes, которых отлавливали при помощи специализированной ловушки, а также снимали с собак в ветеринарных клиниках во время проведения приема. Исследования показали, что в г. Ставрополь имеют распространение два основных рода иксодовых клещей: Demacentor и Ixodes. По результатам исследований в 2022 году самки клеща рода Dermacentor составили 54% от общего числа взрослых особей, самцы –46%. Самки клеща рода Ixodes составили 61% от общего числа взрослых особей, самцы - 39%. Весенний пик активности э 2023 года показал, что самки клеща рода Dermacentor были представлены в количестве 102 особей, самцы – 78 особей. Самки клеща рода Ixodes составили – 53% от общего числа взрослых особей, самцы – 47%. Таким образом, установлено, что наиболее широкое распространение иксодовые клещи имеют в Промышленном районе г. Ставрополь, ввиду распространения аллей, лесных зон и выгулочных площадок с доминирующим видом клещей рода Dermacentor, составляющих 79% от общего числа отловленных эктопаразитов.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В настоящее время паразитморфные клещи являются одной из наиболее важных проблем для России, в связи с большим количеством лесных массивов и полевых угодий. Однако, данная проблема актуальна также и для урбанизированных территорий, особенно для южных регионов страны, в связи с подходящими для развития климатическими условиями в Ставропольском крае и, в частности, в г. Ставрополе, где клещи имеют повсеместное распространение.

Трухачев В.И., Тохов Ю. М. с соавт. (2016), Червяков Д. Э. (2021) в своих исследованиях предполагают, что климатические изменения, а также антропогенные факторы, напрямую влияют на распространение иксодовых клещей и их природные биотопы, увеличивая численность и ареалы обитания [1-3].

Исследования Проскурина Д. А., Дилековой О. В. (2023), Кошкиной Н. А., Горячей Е. В. (2013) показали, что на повсеместное распространение также влияет высокий репродуктивный потенциал иксодовых клещей, благодаря которому, в зависимости от рода, одна самка может производить от 5 до 20 тысяч яиц [4-6].

Исходя их данных Червякова Д. Э. с соавт. (2020), Проскурин Д. А. с соавт. (2021) в г. Ставрополь наибольшую численность имеют такие рода иксодовых клещей, как Dermacentor и Ixodes, являющиеся переносчиками ряда опасных зооантропозоонозных заболеваний, таких как бабезиоз, геморрагическая лихорадка, клещевой энцефалит, туляремия [7,8].

По данным Gábor Földvári et al (2016), Балашова Ю. С. (1998) наибольшую опасность род Dermacentor представляет ввиду своего территориального расположения, так как клещи этого рода при охоте располагаются на стеблях травы и на листьях кустарников, которые, в свою очередь, повсеместно встречаются на выгулочных площадках, аллеях, парковых зонах г. Ставрополя. Данный вид клещей является доминирующим на территории города, ввиду своих морфологических особенностей, а именно: высокой приспособляемости к климатическим изменениям, большего размера, по сравнению с другими иксодовыми, скорости развития, превосходящей большинство родов, высокой яйценоскости.

Клещи рода Ixodes имеют распространение в основном в лесных и лесопарковых зонах. По данным Дворцовой И. В., Москвитина Э. А. (2013), данный род эктопаразитов, являясь полифагами, приспособлен к питанию от различных хозяев: сельскохозяйственных и домашних животных, человека.

Ввиду постоянных изменений климатических условий, природных биотопов, ареалов распространения эктопаразитов, целью исследования стал эпизоотический мониторинг клещевой инвазии на территории г. Ставрополь [9-15].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводились в г. Ставрополь в 2022-2023 захватывая весенний и осенний пики активности клещей, на базе кафедры паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы, анатомии и патанатомии им. проф. С. Н. Никольского, Научно-диагностическом и лечебном ветеринарном центре (НДиЛВЦ) ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», а также на базе ветеринарных клиник ИП Заиченко «Ветеринарный центр им. Пирогова».

Город Ставрополь является частью Северокавказского федерального округа и расположен на юге страны, благодаря чему имеет умеренно-континентальный климат и располагается на возвышенности, благодаря чему происходит четкое деление на три основных административных районов г. Ставрополя, а именно промышленный, ленинский и октябрьский, различающиеся субклиматом. По метеорологическим данным среднегодовая температура составляет 9,90С, а средняя температура в зимние месяцы составляет -2,50С, вследствие чего иксодовые клещи не впадают в спячку, их активность наблюдается круглогодично, вне зависимости от осенних и весенних пиков. Помимо этого, в г. Ставрополе по-

всеместно встречаются зеленые аллеи, парковые и лесопарковые зоны, выгулочные площадки, играющие непосредственную роль в интенсивности клещевой инвазии.

Промышленный район расположен на возвышении, благодаря чему активность ветров и влажность отличается от двух других районов. Температура воздуха отличается от Ленинского района в среднем на 1-3оС, так же, как и уровень осадков. Промышленный район включает в свой состав наибольшее количество зеленых насаждений, аллей и террас, а также парковых зон, благодаря чему, по нашему мнению, нападения клещей происходит в большем количестве, в сравнении с другими районами.

Блок исследований 1. Отлов клещей в природных биотопах. Отлов клещей производился при помощи разработанной нами специализированной ловушки (заявка на патент 2023102388) на различных территориях районов г. Ставрополя, принцип работы которой основывается на воздействии CO2, выделяемого при сублимации сухого льда, как основного хемоаттрактанта, на природные сенсоры иксодовых клещей. Ловушка, по созданной нами методике, выставлялась в выбранную точку в утреннее время, в период с 10 до 15 часов и с 7 до 12 часов, с зональным охватом до 30 метров в диаметре за одно использование. Время работы ловушки составляло 5 часов.

Количество отловленных клещей при помощи данной ловушки составило 765 особей, из которых клещи рода Dermacentor составили 606 особей, клещи рода Ixodes составили – 159.

По классификации, предложенной Балашовым Ю. С. (1998), визуально, при помощи стереомикроскопа MST-131 PZO (Польша), клещи были разделены на две основные группы: клещи рода Dermacentor и клещи рода Ixodes. В свою очередь, каждый род клещей была разделены на две подгруппы по возрасту: личинки, нимфы и имаго. Имаго также были разделены по половому диморфизму на самцов и самок.

Блок исследований 2. Сбор клещей с животных.

Помимо отлова клещей в природных биотопах, нами был проведен сбор клещей с собак путем экстракции пинцетом, ротационными движениями во время приема в ветеринарных клиниках. Сбор проводился в клиниках «им. Пирогова», расположенных в разных районах г. Ставрополя в Промышленном и Октябрьском районах. Клиника «НДиЛВЦ» расположена в Ленинском районе, что позволило также территориально охватить все три района города.

Визуально, клещей дифференцировали при помощи стереомикроскопа MST-131 PZO (Польша) и классифицировали на две основные группы исходя из классификации Балашова Ю. С. (1998): клещи рода Dermacentor и клещи рода Ixodes. В свою очередь, каждая из данных групп была подразделена на 2 подгруппы по половому признаку: самцы и самки, а также по началу периода питания на голодных самок, полунапитавшихся и напитавшихся.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Исследования показали, что в г. Ставрополь имеют распространение два основных рода иксодовых клещей: Dermacentor и Ixodes.

При изучении нами было выявлено, что клещи рода Dermacentor имеют мраморный окрас на спинном щитке, цвет которого варьируется от светло белого до желтоватого. Голова имеет прямоугольное основание, короткую гнатосому. Коксы передней пары ног расщеплены на небольшие парные шпоры. (Рис. 2)

Клещей рода Ixodes идентифицировали по овальному телу, коричневому щитку. Коксы передней пары ног шпорообразной формы. гнатосома, увеличенной длины, прямоугольному основанию головы. (Рис 2)

При исследовании на половой диморфизм нами было выявлено, что самцы клеща рода Dermacentor имели продолговато-овальное тело, сужающееся к голове, спинной щиток мраморного окраса, покрывающий всю верхнюю поверхность

кутикулы. Коксы последней пары ног гораздо крупнее остальных. Анальная борозда, огибающая анус сзади, а также плоские глаза, расположенные по бокам кутикулы. (Рис. 2)

У самок обнаруживается щиток мраморного цвета, начинающийся от головы. В отличии от самцов, щиток у самок покрывает лишь 1/4 часть тела. Основная часть кутикулы представлена хитиновым мешком коричневого цвета. Во время питания, по мере насыщения самка увеличивается в размерах, за счет увеличения объема хитинового мешка (Рис. 1).

Полунапитавшаяся самка имеет глубокие бородки на спинной части кутикулы и коричневатый цвет (Рис. 1).

Полностью напитавшаяся самка сильно увеличивается в размерах. Хитиновый мешок приобретает овальную форму серого цвета. На спинной части мешка глубокие бороздки становятся слабозаметны, что является характерным признаком напитавшейся самки (Рис. 1).

При исследовании на половой диморфизм нами было выявлено, что самцы клеща рода Ixodes имели продолговатое тело, незначительно сужающееся к голове, спинной щиток коричневого, покрывающий всю верхнюю поверхность кутикулы. На каудальной стороне щитка имеются фестоны. Половое отверстие прикрыто половой створкой. Глаза отсутствуют (Рис. 1).

У самок обнаруживается щиток коричневого цвета, начинающийся от головы. В отличии от самцов, щиток у самок покрывает лишь 1/4 часть тела. Основная часть кутикулы представлена хитиновым мешком оранжевого или коричневатого цвета. Во время питания, по мере насыщения самка увеличивается в размерах, за счет увеличения объема хитинового мешка (Рис. 1).

Полунапитавшаяся самка имеет глубокие бородки на спинной части кутикулы и серый цвет (Рис. 1). Полностью напитавшаяся самка сильно увеличивается в размерах. Хитиновый мешок приобретает овальную форму светло-серого

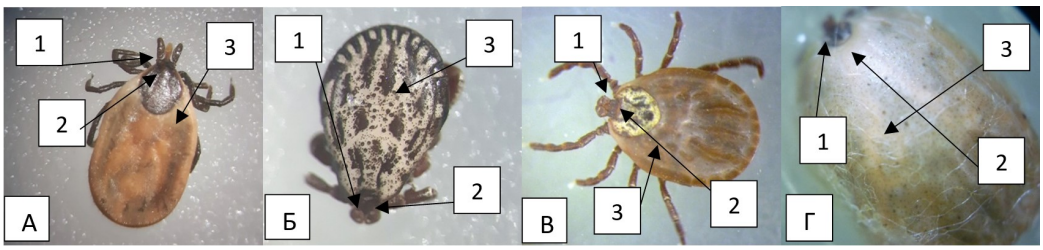


Рисунок 1 – А – голодная самка Ixodes. В – самец Dermacentor. Г – голодная самка Dermacentor. Д – полунапитавшаяся самка. Е – напитавшаяся самка Dermacentor. Увеличение ×15. 1 – голова с гипостомой; 2 – спинной щиток; 3 – хитиновый мешок.

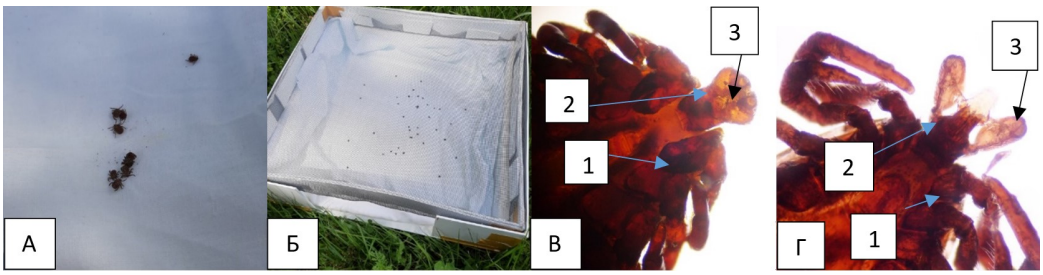


Рисунок 2 – Отлов иксодовых клещей при помощи специализированной ловушки.
А – иксодовые клещи в полости ловушки. Б – специализированная ловушка.
В – иксодовый клещ рода Dermacentor. Г – иксодовый клещ рода Ixodes.
1 – коксы передней пары ног; 2 – голова клеща; 3 – гипостома. Увеличение ×40.

цвета. На спинной части мешка глубокие бороздки становятся слабозаметны, что является характерным признаком напитавшейся самки (Рис. 1).

Блок исследований 1.

Проведенные эпизоотические мероприятия-отлов, показал, что количество клещей рода Dermacentor составило 79% от их общего числа, а клещей рода Ixodes – 21% соответственно. (Рис. 3, Табл. 1).

Количество взрослых особей клещей рода Dermacentor составило 86%, а нимф и личинок - 14% соответственно. Количество взрослых особей составили клещей рода Ixodes 81%, а нимф и личинок - 19% (Табл. 1).

Исходя из полученных данных, количество взрослых особей превысило в 4 раза, по сравнению с отловленными нимфами и личинками, что, вероятно, связано с пониженной хеморецепторной активностью у нимф и личинок.

Анализ полученных данных показал, что наибольшее число клещей было отловлено в Промышленном районе г. Ставрополь, что, по нашему мнению, связано с распространением в данном районе аллей, террас, парковых зон и выгулочных площадок.

Сравнительная характеристика весенних пиков 2022г. и 2023г., показала незначительное увеличение численности эктопаразитов к 2023 году.

По результатам исследований в 2022 году самки клеща рода Dermacentor составили 54% от общего числа взрослых особей, самцы –46% соответственно. Самки клеща рода Ixodes составили 61% от общего числа взрослых особей, тогда как самцы - 39%.

Весенний пик активности эктопаразитов 2023 года показал, что самки клеща рода Dermacentor были представлены в количестве 102 особей или 57%, самцы – 78 особей или 43%. Самки клеща рода Ixodes составили 53% от общего числа взрослых особей, тогда как самцы - 47%. (Табл. 2).

Анализируя полученные данные, установлено, что весенний пик активности 2022-2023гг. показал активное увеличение количества самок клещей обоих родов, что, вероятно, отражает гонортрофический цикл, при котором самки иксодовых клещей проявляют наибольшую активность в связи с откладкой яиц, с последующим развитием личинок, без необходимости впадения в анабиоз из-за понижения атмосферной температуры.

Таблица 1 – Количество отловленных клещей, распределенные по родам, возрасту и районам

Период отлова	Тип	Род клещей	Ленинский	Октябрьский	Промышленный
2022 Весенний пик	Имаго	Dermacentor	46	41	78
		Ixodes	7	13	17
	Нимфа, личинка	Dermacentor	13	6	19
		Ixodes	4	-	9
2022 Осенний пик	Имаго	Dermacentor	41	37	97
		Ixodes	11	13	21
	Нимфа, личинка	Dermacentor	11	4	6
		Ixodes	4	8	-
2023 Весенний пик	Имаго	Dermacentor	49	45	86
		Ixodes	11	14	22
	Нимфа, личинка	Dermacentor	13	2	12
		Ixodes	-	1	4

Таблица 2 – Распределение иксодовых клещей по половому диморфизму

Период отлова	Тип	Род клещей	Самцы	Самки
2022 Весенний пик	Имаго	Dermacentor	67	98
		Ixodes	13	24
2022 Осенний пик	Имаго	Dermacentor	91	84
		Ixodes	19	26
2023 Весенник пик	Имаго	Dermacentor	78	102
		Ixodes	22	25

Блок исследований 2.

За 2022 год в ветеринарных клиниках нами было собрано 623 клеща. После проведения исследований эктопаразитов на родовую принадлежность, было установлено, что количество клещей рода Dermacentor составило 67% от общего числа напавших паразитов, а клещей рода Ixodes 33% соответственно. (Табл. 3).

Таблица 3 – Клещи, отобранные на приеме у ветеринарных специалистов

Период исследования	Ветеринарные клиники по районам	Род Dermacentor				Род Ixodes			
		Самцы	Самки голодные	Самки полунапитавшиеся	Самки напитавшиеся	Самцы	Самки голодные	Самки полунапитавшиеся	Самки напитавшиеся
I квартал 2022	Промышленный	4	5	4	2	-	3	5	2
	Октябрьски	12	2	5	4	3	2	2	-
	Ленинский	8	3	9	7	2	5	5	3
II квартал 2022	Промышленный	12	3	20	10	5	9	6	2
	Октябрьский	11	8	9	11	3	4	1	-
	Ленинский	19	15	3	6	5	7	1	6
III квартал 2022	Промышленный	11	8	11	2	2	3	5	3
	Октябрьский	13	5	3	1	1	2	-	4
	Ленинский	10	9	3	5	3	2	6	2
IV квартал 2022	Промышленный	18	11	16	10	5	11	6	4
	Октябрьский	10	4	11	5	3	4	2	2
	Ленинский	12	23	9	14	6	7	-	3
I квартал 2023	Промышленный	27	11	18	17	2	-	7	3
	Октябрьский	14	8	6	4	-	6	5	2
	Ленинский	23	12	9	15	4	2	9	-

По половому диморфизму было выявлено, что количество самцов клеща рода Dermacentor составило 49% от их общего числа, тогда как самок составило - 51%. Количество самцов Ixodes составило 21%, а самок 79% соответственно.

Анализируя полученные данные, нами было установлено, что наибольшее количество обращений из-за нападения клещей регистрировалось в Промышленном районе г.Ставрополя, что соответствует данным, полученным в первом блоке исследований. Второй квартал 2022 года показал увеличение нападений в 1,8 раза, что отражает весенний пик активности клещей.

Во втором полугодии 2022 года наблюдается увеличение числа особей в 1,2 раза, по сравнению с первым полугодием, что, по нашему мнению, связано с развитием личинок и нимф до взрослых особей.

Количество самцов клеща рода Dermacentor незначительно меньше, количества самок, при этом самки рода Ixodes превосходили самцов в 3,8 раз, что отражает их большую активность во время периода питания.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, установлено, что наиболее широкое распространение иксодовые клещи имеют в Промышленном районе г. Ставрополь, ввиду распространения аллей, террас, парковых, лесопарковых, лесных зон и выгулочных площадок с доминирующим видом клещей рода Dermacentor, составляющих 79% от общего числа отловленных эктопаразитов.

Сезонные пики активности клещей на территории г. Ставрополь, не имеют четких границ и на сегодняшний день не соответствуют литературным данным, что связано с климатическими изменениями, в частности с повышением среднегодовой температуры, вследствие которых нападения наблюдается круглогодично.

Установлено, что в г. Ставрополь, обнаруживается незначительное увеличение количества самок иксодовых клещей, по сравнению с самцами, что, по нашему мнению, связано с особенностями распространения эктопаразитов, а также повышенной активности самок.

MONITORING OF THE EPIZOOTIC SITUATION OF TICKE INVASION ON THE TERRITORY OF THE CITY OF STAVROPOL

Proskurin D. A. * – asp. of the Department of Parasitology and Veterinary-sanitary examination, anatomy and Pathanatomy named after Professor S. N. Nikolsky (ORCID: 0009-0004-0524-5354), **Dilekova O. V.** – Doctor of Biology, Assoc., Head of the Department. parasitology and veterinary and sanitary examination, anatomy and pathanatomy named after Professor S. N. Nikolsky (0000-0003-0247-8633).

Stavropol State Agrarian University

* pro.kish@mail.ru

***Acknowledgments**: the work was supported by AS "Fond-M" - the Innovation Promotion Fund of the Russian Federation, the UMNIK Program, Draft Agreement 18278GU / 2022 dated 12/26/2022.*

ABSTRACT

This problem is also relevant for urbanized cases, especially for the southern regions of the country, where there are cases of spread of ticks. Research on the basis of the Department of Parasitology and Veterinary and Sanitary Expertise, Anatomy and Pathology named after prof. S. N. Nikolsky and the Scientific, Diagnostic and Treatment Veterinary Center of the FGBOU HE "Stavropol State Agrarian University", as well as on the basis of the veterinary clinic IP Zaichenko "Veterinary Center named after. Pirogov. The object of the study was ixodid ticks of the genera Dermacentor and Ixodes, seized using a specialized trap, as well as seized with dogs in veterinary clinics during the acceptance. The study showed that two main types of ixodid ticks are widespread in the city of Stavropol: Demacentor and Ixodes. According to the results of research in 2022, female ticks of the genus Dermacentor identified 54% of the total number of adults, males - 46%. Female ticks of the genus Ixodes accounted for 61% of the total number of adults, males - 39%. The spring peak of

activity in 2023 showed that female ticks of the genus Dermacentor were identified in the amount of 102 individuals, males - 78 individuals. Female ticks of the genus Ixodes accounted for 53% of the total number of adults, males - 47%. Thus, it has been established that the most widespread distribution of ixodid ticks takes place in the Industrial District of Stavropol, the distribution of alleys, forest zones and walking areas with the coverage of the species of ticks of the genus Dermacentor, is 79% of the total number of captured ectoparasites.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Трухачев В.И., Тохов Ю.М., Луцук С.Н., Дылев А.А., Толоконников В.П., Дьяченко Ю.В. Распространение и экологическая характеристика иксодовых клещей рода Hyalomma в экосистемах Ставропольского края // Юг России: экология, развитие. 2016. – Т.11. – №2. – С.59-69.
2. Червяков Д.Э. Бабезиоз собак (распространение, патоморфологические изменения, лечение и профилактика). Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук / Ставропольский государственный аграрный университет. Ставрополь, 2021.
3. Проскурин Д.А., Дилекова О.В. Развитие ооцитов иксодового клеща рода Dermacentor. Ветеринарная патология. 2023. – Т. 22. – № 1. – С. 38-45.
4. Белова Л.М., Токарев А.Н. Эктопаразитозы крупного рогатого скота в хозяйствах Ленинградской области. Известия КГТУ. 2008. – № 13. – С. 29-32.
5. Кошкина Н.А., Горячая Е.В. Морфобиологическая характеристика клеща hyalomma marginatum marginatum и меры борьбы с ним. Российский паразитологический журнал. 2013. – № 2. – С. 10-14.
6. Червяков Д.Э., Луцук С.Н., Дилекова О.В., Проскурин Д.А. Изменение гематологических показателей крови при остром и хроническом течении бабезиоза У СОБАК. Международный вестник ветеринарии. 2020. – № 3. – С. 130-134.
7. Казакова О.Д., Белова Л.М. Случаи бабезиоза собак в Ленинградской области. В сборнике: Современные проблемы общей и частной паразитологии. Материалы III международного паразитологического симпозиума. 2019. – С. 127-130.
8. Проскурин Д. А., Дилекова О. В., Луцук С. Н. Видовые особенности клещей переносчиков бабезиоза собак в г. Ставрополе. В сборнике: Научно-образовательная среда как основа развития агропромышленного комплекса арктических территорий. Научно-практическая конференция с международным участием «Научно-образовательная среда как основа развития агропромышленного комплекса арктических территорий», посвященная 70-летию доктора ветеринарных наук, профессора, Заслуженного деятеля науки Республики Саха (Якутия) Павловой Александры Иннокентьевны. 2021. – С. 74-78.
9. Földvári, G., Široký, P., Szekeres, S. et al. Dermacentor reticulatus: a vector on the rise. Parasites Vectors 9, – 314. – (2016).
10. Балашов Ю.С. Иксодовые клещи – паразиты и переносчики инфекций. СПб.: Наука, 1998. – 287 с.
11. Дворцова И.В., Москвитина Э.А. Экология клеща Ixodes ricinus (обзор литературы) // Universum: медицина и фармакология: электрон. научн. журн. 2013. – № 1 (1).
12. Гаврилова Н.А., Белова Л.М. Зависимость эффективности лечения собак при клещевом боррелиозе от сроков постановки диагноза. Международный вестник ветеринарии. 2023. – № 1. – С. 40-44.
13. Логинова О.А., Белова Л.М., Гаврилова Н.А., Петрова М.С., Кузнецов Ю.Е., Ширяева В.А. К вопросу о размножении иксодовых клещей. В сборнике: Современные проблемы общей и частной паразитологии. Материалы II Международного паразитологического форума. Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины; Зоологический институт РАН. 2017. – С. 173-176.
14. Гаврилова Н.А., Белова Л.М. Зависимость эффективности лечения собак при клещевом боррелиозе от сроков постановки диагноза. Международный вестник ветеринарии. 2023. – № 1. – С. 40-44.

15. Никонорова В.Г., Белова Л.М., Гаврилова Н.А. сезонные колебания сочленов паразитарного биоценоза низинных (заливных) и суходольных пастбищ. Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2022. – № 4 (56). – С. 20-25.

REFERENCES

1. Trukhachev V.I., Tokhov Yu.M., Lutsuk S.N., Dylev A.A., Tolokonnikov V.P., Dyachenko Yu.V. Distribution and ecological characteristics of ixodic ticks of the genus Hyalomma in ecosystems of the Stavropol Territory // South of Russia: ecology, development. 2016. – Vol.11. – No.2. – C.59-69.
2. Chervyakov D.E. Babesiosis of dogs (spread, pathomorphological changes, treatment and prevention). Abstract of the dissertation for the degree of Candidate of Veterinary Sciences / Stavropol State Agrarian University. Stavropol, 2021.
3. Proskurin D.A., Dilekova O.V. Development of oocytes of the ixodic tick of the genus Dermacentor. Veterinary pathology. 2023. – Vol. 22. – No. 1. – pp. 38-45.
4. Belova L.M., Tokarev A.N. Ectoparasitoses of cattle in the farms of the Leningrad region. News of KSTU. 2008. – No. 13. – pp. 29-32.
5. Koshkina N.A., Goryachaya E.V. Morphobiological characteristics of the hyalomma marginatum marginatum tick and measures to combat it. Russian Parasitological Journal. 2013. – No. 2. – pp. 10-14.
6. Chervyakov D.E., Lutsuk S.N., Dilekova O.V., Proskurin D.A. Changes in hematological blood parameters in acute and chronic course of babesiosis IN DOGS. International Bulletin of Veterinary Medicine. 2020. – No. 3. – pp. 130-134.
7. Kazakova O.D., Belova L.M. Cases of babesiosis of dogs in the Leningrad region. In the collection: Modern problems of general and private parasitology. Materials of the III International Parasitological Symposium. 2019. – pp. 127-130.
8. Proskurin D. A., Dilekova O. V., Lutsuk S. N. Specific features of ticks of carriers of babesiosis of dogs in Stavropol. In the collection: Scientific and educational environment as the basis for the development of the agro-industrial complex of the Arctic territories. Scientific and practical conference with international participation "Scientific and educational environment as the basis for the development of the agro-industrial complex of the Arctic territories", dedicated to the 70th anniversary of Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Honored Scientist of the Republic of Sakha (Yakutia) Pavlova Alexandra Innokentievna. 2021. – pp. 74-78.
9. Földvári, G., Široký, P., Szekeres, S. et al. Dermacentor reticulatus: a vector on the rise. Parasites Vectors 9, – 314. – (2016).
10. Balashov Yu.S. Ixode mites – parasites and vectors of infections. St. Petersburg: Nauka, 1998. – 287 p.
11. Dvortsova I.V., Moskvitina E.A. Ecology of the tick Ixodes ricinus (literature review) // Universum: medicine and pharmacology: electron. scientific. journal. 2013. – № 1 (1).
12. Gavrilova N.A., Belova L.M. Dependence of the effectiveness of treatment of dogs with tick-borne borreliosis on the timing of diagnosis. International Bulletin of Veterinary Medicine. 2023. – No. 1. – pp. 40 -44.
13. Loginova O.A., Belova L.M., Gavrilova N.A., Petrova M.S., Kuznetsov Yu.E., Shiryaeva V.A. On the issue of reproduction of ixodic ticks. In the collection: Modern problems of general and private parasitology. Materials of the II International Parasitological Forum. Saint Petersburg State Academy of Veterinary Medicine; Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences. 2017. – pp. 173-176.
14. Gavrilova N.A., Belova L.M. Dependence of the effectiveness of treatment of dogs with tick-borne borreliosis on the timing of diagnosis. International Bulletin of Veterinary Medicine. 2023. – No. 1. – pp. 40 -44.
15. Nikonorova V.G., Belova L.M., Gavrilova N.A. seasonal fluctuations in the joints of parasitic biocenosis of lowland (flood) and dry pastures. Topical issues of veterinary biology. 2022. – № 4 (56). – Pp. 20-25.

ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ, ФАРМАЦИЯ

УДК 597.442:639.043.2
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.126

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ТЕМПЫ РОСТА ЛИЧИНОК СТЕРЛЯДИ

Кузьмичева С.В.[1*] – науч. сотр. лабораторией иммунологии (ORCID 0000-0001-9476-3858); **Микряков Д.В.**[1] – канд. биол. наук, зав. лабораторией иммунологии, (ORCID 0000-0001-9086-1688); **Новиков Д.А.**[1] – зав. стационаром полевых, экспериментальных и экспедиционных работ (ORCID 0009-0005-6172-7785); **Салов С.Р.**[2] – студ. (ORCID 0009-0009-5389-7935).

[1] ФГБУН «Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН».
[2] ФГБОУ ВО «Ярославский государственный аграрный университет».

*kuzmicheva.sv@ibiw.ru

Ключевые слова: *личинка стерляди, кормовая добавка «Акватан», пробиотик «СУБ-ПРО», антибактериальный препарат «Антибак-100», рыбохозяйственные показатели.*

Keywords: *sterlet larvae; feed additive «Aquatan»; probiotic «SUB-PRO»; antibacterial preparation «Antibak-100»; fishery indicators.*

Финансирование: *Материалы подготовлены в рамках регионального конкурса Российского научного фонда 2021 года «Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований малыми отдельными научными группами» (соглашение № 22-26-20111 от 22.03.2022 г).*

Поступила: 27.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Проведено экспериментальное исследование влияния различных кормовых добавок на темпы накопления массы и скорость роста личинок стерляди. Четыре группы рыб рассадили в проточные пластиковые бассейны по 150 особей. Контрольная группа (I) – обычный корм, а опытным с добавлением разных препаратов: II – препарат «АКВАТАН» на основе эллаготанинов производства компании «Танин» г. Севница (Словения) из расчета 2 г/кг корма, III – антибактериальный препарат на основе ципрофлоксацина «Антибак-100» (ООО «НВЦ Агроветзащита»), из расчета 0.5 г/кг живой массы рыб, IV – пробиотик на основе *Bacillus subtilis* «СУБ-ПРО» (ООО «Вектор-Евро») из расчета 100 г/т корма. Препараты в корм добавляли согласно инструкциям. Оценку влияние препаратов на рыб исследовали по рыбохозяйственным показателям: среднесуточная скорость роста, абсолютный прирост, среднесуточный прирост и коэффициент массонакопления. За время эксперимента установлено, что величины рыбохозяйственных показателей в разных группах стерляди изменялись с различной интенсивностью в зависимости от вре-

мени после начала эксперимента. Наиболее высокие показатели скорости роста и темпы массонакопления зафиксированы у рыб, которым добавляли в корм «СУБ-ПРО» и «Антибак-100», а наиболее низкие – «АКВАТАН». Полученные результаты указывают на целесообразность дальнейших исследований влияния различных препаратов на рыбохозяйственные показатели объектов аквакультуры.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В условиях повышения спроса на осетровые виды рыб, аквакультура – единственный надежным источник увеличения объемов выращивания и служит гарантом продовольственной безопасности России [1]. Выросшее за последние годы воспроизводство и выращивание осетровых рыб связано с увеличение спроса, высокой рентабельностью, сокращением запасов в естественных водоемах.

Стерлядь *Acipenser ruthenus* (Linnaeus, 1758) – один из основных объектов пресноводной аквакультуры [2]. При выращивании рыбы часто подвергаются действию неблагоприятных стресс-факторов (колебаний кислородного и температурного режимов, изменений pH-среды и условий кормления, транспортировки и др.), которые приводят к снижению иммунитета и выживаемости, а также темпов роста и развития [3; 4; 5]. Использование различных лечебных, профилактических препаратов и иммуномодуляторов широко распространено в современной аквакультуре. Антибактериальные препараты используют для лечения бактериальных заболеваний [6]. Для неспецифической иммунопрофилактики применяют различные пробиотики [7], механизм действия которых заключается в повышении активности пищеварительных ферментов и антагонистическом действии на бактериальные антигены и препараты растительного происхождения, повышающие защиту от возбудителей различных заболеваний [8; 9; 10], иммунную активность и выживаемость рыб [11; 12]. Цель исследований – изучение влияния различных препаратов на темпы накопления массы и скорость роста личинок стерляди.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводили на личинках стерляди средней массой (0,5 г) в возрасте 1 месяц. Их разделили на четыре группы: контрольная и 3 опытных добавлением препаратов. Каждую группу по 1000 особей рассадили в проточные пластиковые бассейны, объемом 0,3 $м^3$. За время эксперимента температура воды колебалась в пределах 17 – 20°С, содержание кислорода от 7 до 10 мг O_2/л на выходе из бассейна, уровень pH и азотистых метаболитов в норме. Стерлядь кормили 24 раза в сутки кормом для рыб фирмы «Alltech Coppens Advance». Согласно данным производителя в состав этого вида корма входят белки (56%), жиры (15%), клетчатка (0,3%), зола (11,6%), фосфор (1,75%) и витамин А (14000 МЕ/кг). В первую неделю эксперимента для кормления использовали гранулы размером 0,2-0,3 мм, далее личинок переводили на гранулы размером 0,3-0,5 мм. Используемый в эксперименте корм различался только размерами гранул. Контрольная группа (I) – простой корм, а опытным с добавлением разных препаратов: II – препарат «АКВАТАН» на основе эллаготанинов производства компании «Танин» г. Севница (Словения) из расчета 2 г/кг корма, III – антибактериальный препарат на основе ципрофлоксацина «Антибак-100» (ООО «НВЦ Агроветзащита»), из расчета 0,5г/кг живой массы рыб, IV – пробиотик на основе *Bacillus subtilis* «СУБ-ПРО» (ООО «Вектор-Евро») из расчета 100 г/т корма. Препараты в корм добавляли согласно инструкциям.

Взвешивание личинок проводили путем облова из всех бассейнов. По 200 особей из каждой группы сажали в ведро с водой с заранее известной массой и взвешивали с помощью весов марки M-ER 223AC-15.2 LED. За среднее значение массы 200 личинок принималось среднее арифметическое по результатам трех взвешиваний. Далее высчитывали среднюю массу одной личинки.

Оценку влияние кормовых добавок,

препаратов и пробиотиков на темпы роста рыб рассчитывали по общепринятым показателям [13; 14; 15]:

1. Среднесуточную скорость роста по формуле сложных процентов:

$A = [(mк / mo)\ 1/t – 1] \times 100$ (%),

где mк и mo – масса рыбы в конце и в начале опыта; t – продолжительность опыта, сут.

2. Абсолютный прирост:

Раб = mк – mo,

где mк – конечная масса испытуемых рыб, г; mo – начальная масса молоди, г.

3. Среднесуточный прирост:

Рср.сут. = (mк – mo)/t,

где mк – конечная масса рыб, г; mo – начальная масса молоди, г; t – продолжительность опыта, сут.

4. Для более точного определения скорости роста коэффициент массонакопления:

Км=((Мк1/3–Мо1/3) *3)/t,

где Км – общий продукционный коэффициент скорости роста; Мк и Мо – конечная и начальная масса рыбы, г; t – продолжительность выращивания, сут.

Таблица 1 – Рыбоводно-хозяйственные показатели

№	Средняя масса личинки, г.	Рыбохозяйственные показатели			
		Среднесуточная скорость роста, %	Абсолютный прирост, г.	Среднесуточный прирост, г.	Коэффициент массонакапливания, ед.
	через 7 сут.				
I	0,55	1,37	0,05	0,007	0,01
II	0,60	2,63	0,1	0,01	0,02
III	0,70	4,92	0,2	0,02	0,04
IV	0,60	2,63	0,1	0,01	0,02
	через 14 сут				
I	0,80	3,41	0,3	0,021	0,028
II	0,70	2,43	0,2	0,014	0,020
III	0,75	2,93	0,25	0,017	0,024
IV	0,70	2,43	0,2	0,014	0,020
	через 21 сут				
I	1,15	4,04	0,65	0,03	0,036
II	1,05	3,59	0,55	0,026	0,031
III	1,15	4,04	0,65	0,03	0,036
IV	1,17	4,13	0,67	0,031	0,037
	через 27 сут				
I	1,60	4,4	1,1	0,04	0,041
II	1,57	4,32	1,07	0,039	0,04
III	1,72	4,68	1,22	0,045	0,044
IV	1,75	4,74	1,25	0,046	0,045

Примечание: I – Контрольная группа; II – «АКВАТАН»; III – «Антибак-100»; IV – «СУБ-ПРО».

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Используемые в качестве кормовых добавок препараты оказали влияние на скорость роста и накопления массы опытных рыб (таблица). Отличия зафиксированы как опытных групп от контроля, так и между разными опытными группами.

За время эксперимента установлено, что величины рыбохозяйственных показателей в разных группах стерляди изменялись с различной интенсивностью в зависимости от времени после начала эксперимента. Наиболее высокие рыбохозяйственные показатели отмечены на 7 сутки с начала эксперимента в группе с «Антибак-100», на 14 сутки в контроле. В последующие сроки наблюдения – в 4-й группе с добавлением «СУБ-ПРО».

В конце эксперимента наиболее низкие исследуемые рыбохозяйственные показатели зафиксированы у личинок второй группы, которым добавляли в корм препарат «АКВАТАН». Тогда, как наиболее высокие исследуемые параметры отмечены у третьей («Антибак-100») и четвертой («СУБ-ПРО») групп. Зафиксированные отличия исследуемых параметров к концу эксперимента в исследуемых группах рыб связаны с воздействием используемых препаратов на процессы пищеварения и усвоения корма.

«СУБ-ПРО» оказал благоприятное влияние, т.к. механизм действия этого пробиотика заключается в колонизации кишечника рыбы полезными микроорганизмами, которые повышают активность ферментов, функционирующих в кишечнике рыб. Однако бактерии р. *Bacillus* не колонизируют кишечник рыб, и их концентрация должна постоянно поддерживаться [16].

Высокие показатели у рыб 3 группы по сравнению контролем, вероятно, связаны с положительным воздействием антибиотика на активность пищеварительных ферментов. Ранее было установлено положительное влияние препарата «Антибак-100» на протеолитическую активность слизистой оболочки кишечника у годовиков карпа *Cyprinus carpio* L. [17].

Низкие показатели темпов накопления массы и скорости роста личинок стерляди второй группы указывают на отсутствие положительного влияния препарата «АКВАТАН». Исследования в основном проводили на лососевых видах рыб [18; 19] и, вероятно, связано с неправильной дозировкой препарата при проведении эксперимента на личинках.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Анализ полученных результатов показал отличия влияния исследуемых препаратов на скорость роста и темпы массонакопления у личинки стерляди во время эксперимента. По мере развития организма наиболее положительное воздействие оказывал пробиотик «СУБ-ПРО». Полученные результаты указывают на целесообразность дальнейших исследований влияния различных препаратов на рыбохозяйственные показатели объектов аквакультуры.

EFFECT OF DIFFERENT PREPARATIONS ON THE GROWTH RATE STERLET LARVAE

Kuzmicheva S.V.[1*] – researcher (ORCID 0000-0001-9476-3858)4 **Mikryakov D.V.**[1] –head of laboratory immunology, candidate of Biology (ORCID 0000-0001-9086-1688); **Novikov D.A.**[1] – head of the Station for field, experimental and expeditionary (ORCID 0009-0005-6172-7785); **Salov S.R.**[2] – student (ORCID 0009-0009-5389-7935).

[1] Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences

[2] Yaroslavl State Agrarian University

*kuzmicheva.sv@ibiw.ru

Financing: *The materials were prepared within the framework of the regional competition of the Russian Science Foundation in 2021 "Conducting foundation scientific research and search for scientific research by small individual scientific groups" (Agreement No. 22-26-20111 of 22.03.2022).*

ABSTRACT

An experimental study of the effect of various feed additives on the rate of mass accumulation, growth rate and survival of

sterlet larvae was carried out. Four groups of fish were planted in flow-through plastic pools with 150 fish each. The control group (I) was fed without additives, while the experimental group was fed with the addition of different preparations: II - preparation "AQUATAN" based on ellagotannins produced by the company "Tanin", Sevnica, Slovenia. Sevnica (Slovenia) at the rate of 2 g/kg of feed, III - antibacterial preparation based on ciprofloxacin "Antibak-100" (LLC "NVTs Agrovetzaschita"), at the rate of 0.5 g/kg live weight of fish, IV - probiotic based on Bacillus subtilis "SUB-PRO" (LLC "Vector-Euro") at the rate of 100 g/t feed. The preparations were added to the feed according to the instructions. The effect of preparations on fish was evaluated by fishery indicators: average daily growth rate, absolute growth, average daily gain and mass accumulation coefficient. During the experiment it was found that the values of fishery indicators in different groups of sterlet changed with different intensity depending on the time after the beginning of the experiment. The highest growth rate and mass accumulation rates were recorded in fish fed with SUB-PRO and Antibak-100, and the lowest with Aquatan. The results obtained indicate the expediency of further studies of the effect of various preparations on the fishery parameters of aquaculture objects. aquaculture.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Богерук, А. К. Аквакультура России: история и современность / А. К. Богерук // Рыбное хозяйство. – 2005. – № 4. – С. 14-18. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=18215569

2. Виноградов, В. К. Биотехника товарного осетроводства / В. К. Виноградов, Е. А. Мельченков // Аквакультура начала XXI века: истоки, состояние, стратегия развития. Матер. междунар. науч.-практ. конф. – Москва. –2002. – С. 81-87.

3. Головин, П. П. Проблема стресса у рыб в пресноводной аквакультуре: способы диагностики и коррекции / П. П. Головин // Болезни рыб: Сб. науч. тр. – Москва: Компания Спутник, 2004. – Вып. 79. – С. 54-61.

4. Микряков, В. Р. Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб / В. Р. Микряков. – Рыбинск: ИБВВ РАН, 1991. – 153 с. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21224668

5. Наумова, А. М. Ихтиологический контроль на осетровых рыбоводных заводах / А. М. Наумова, О. М. Валедская, Л. В. Ларцева, Н. А. Головина, Л. Н. Юхименко, А. Ю. Наумова, А. В. Казарнокова, Е. В. Шестаковская, М. Г. Трофимова, Н. А. Ефимова // Тезисы международной конференции: Осетровые на рубеже XXI века – Астрахань: Издательство «КаспНИРХ», 2000. – С. 268-269.

6. Юхименко, Л. Н. Лечебные и профилактические мероприятия против бактериозов в рыбоводстве / Л. Н. Юхименко, С. Б. Токарева, М. С. Кукин, Л. И. Бычкова // Ветеринария и кормление. – 2021. – № 6. – С. 67-69. – DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2021-6-18. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47419316

7. Бычкова, Л. И. Пробиотический препарат СУБ-ПРО (субалин) – альтернатива антибиотикам / Л. И. Бычкова, Л. Н. Юхименко, А. Г. Ходак, О. С. Скоробогатько // Рыбоводство. – 2008. – № 2. – С. 48-49. – Режим доступа: https://elibrary.ru/author_items.asp?authorid=1028699&pubrole=100&show_refs=1&show_option=0

8. Дегтярик, С. М. Влияние растительных экстрактов на возбудителей аэромонозов и псевдомонозов рыб / С. М. Дегтярик, Е. И. Гребнева, Г. В. Слободницкая, Н. А. Бенецкая, Е. В. Максимьюк, А. В. Беспалый // Вопросы рыбного хозяйства Беларуси. – 2016. – № 32. – С. 249-261. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=28114134

9. Nya, E. J. Use of garlic, Allium sativum, to control Aeromonas hydrophila infection in rainbow trout, Oncorhynchusmykiss (Walbaum) / E. J. Nya, B. Austin // J. Fish Diseases. – 2009. – Vol. 32, – № 11. – P. 963-970.

10. Sahu, S. Effect of Allium sativum on the

immunity and survival of Labeorohita infected with Aeromonashydrophila / S. Sahu, B.K. Das, B.K. Mishra, J. Pradhan, N. Sarangi // J. Appl. Ichthyol. – 2007. – Vol. 23, – № 1. – P. 80-86.
11. Immanuel, G. Dietary medicinal plant extracts improve growth, immune activity and survival of tilapia *Oreochromismossambicus* / G. Immanuel, R.P. Uma, P. Iyapparaj, T. Citarasu, S. M. Punitha Peter, M. Michael Babu, A. Palavesam // J. Fish Biol. – 2009. – 74, – № 7. – P. 1462-1475.
12. Tkachenko, H. The antibacterial activity of the ethanolic leaf extract of FicusPumilla L. (MORACEAE) against Fich Bacterial Patogens / H. Tkachenko, L. Buyun, O. Kasiyan, E. Terech-Majewska, Z. Osadowski // Scientific Journal of the Far East State Technical Fisheries University. – 2018. – № 2.– T. 45. – P. 20-30.
13. Правдин, П. Ф. Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных) / П. Ф. Правдин. – Москва: «Пищ. Пром-ть», 1966. – 250 с.
14. Резников, В. Ф. Стандартная модель массонакопления рыбы / В. Ф. Резников, С. А. Баранов, Е. А. Стариков, Г. И. Толчинский // Механизация и автоматизация рыбоводства и рыболовства во внутренних водоемах: сб. науч. тр. – Москва: «ВНИИПРХ», 1978. – Вып. 77. – С. 12-14.
15. Castell, J. D. Report of the EIFAC, IUNS and ICES Working Group on the standardization of the methodology in fish nutrition research / J. D. Castell, K. Tiews // Hamburg, (Federal Republic of Germany, March 21-23, 1979), European Inland Fisheries Advisory Commission. Technical paper 36. 1979. – P. 1-24.
16. Бурлаченко, И. В. Актуальные вопросы безопасности комбикормов в аквакультуре рыб / И. В. Бурлаченко. – Москва: Издательство «ВНИРО», 2008. – 183 с. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=24087440
17. Кузьмина, В. В. Влияние антибактериальных препаратов и пробиотиков на активность ферментов слизистой оболочки кишечника карпа Cyprinuscarpio. 2. Протеиназы / В. В. Кузьмина, Д. В. Микряков, М. В. Шалыгин, К. В. Гаврилин // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2011. – № 4. – С. 18-22. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=17949141
18. Использование эллаготанинов в рационах аквакультуры. [Электронный ресурс] – 2020. – URL: https://apknews.su/article/213/2594/ (дата обращения 04.08.2021).
19. Зеков, Д. Д. Определение эффективных норм введения кормовой добавки Акватан в рацион радужной форели с биологической оценкой влияния на рыбохозяйственные показатели / Д. Д. Зеков, М. В. Ульянов, Д. В. Микряков, Т. А. Суворова // Рыбоводство и рыбное хозяйство. – 2021.– № 11.– С. 66-77. – DOI: 10.33920/sel09211106. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47327779

REFERENCES

1. Bogeruk, A. K. Aquaculture of Russia: history and modernity / A. K. Bogeruk // Fisheries.2005:4:14-18. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=18215569 (In Russ.)
2. Vinogradov, V. K. Biotechnology of commercial sturgeon farming / V. K. Vinogradov, E. A. Melchenkov // Aquaculture of the early 21st century: origins, status, development strategy. Mat. international scientific-practical conf. – Moscow. 2002:81-87.
3. Golovin, P. P. The problem of stress in fish in freshwater aquaculture: methods of diagnosis and correction / P. P. Golovin // Fish diseases: Coll. scientific tr. – Moscow: Sputnik Company, 2004:79:54-61.
4. Mikryakov, V. R. Patterns of the formation of acquired immunity in fish / V. R. Mikryakov. – Rybinsk: «IBVV RAS», 1991:153. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21224668 (In Russ.)
5. Naumova, A. M. Ichthyological control at sturgeon hatcheries / A. M. Naumova, O. M. Valedskaya, L. V. Lartseva, N. A. Golovina, L. N. Yukhimenko, A. Yu. Naumova, A. V. Kazarnokova, E. V. Shestakovskaya, M. G. Trofimova, N. A. Efimova // Abstracts of the international conference: Sturgeon at the turn of the 21st century - Astrakhan: Pub-

lishing House "KaspNIRKH", 2000:268-269.
6. Yukhimenko, L. N. Therapeutic and preventive measures against bacterial diseases in fish farming / L. N. Yukhimenko, S. B. Tokareva, M. S. Kukin, L. I. Bychkova // Veterinary medicine and feeding.2021:6:67-69. – DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2021-6-18. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47419316 (In Russ.)
7. Bychkova, L. I. Probiotic drug SUB-PRO (subalin) - an alternative to antibiotics / L. I. Bychkova, L. N. Yukhimenko, A. G. Khodak, O. S. Skorobogatko // Fish farming.2008:2:48-49. – URL: https://elibrary.ru/author items.asp?authorid=1028699&pubrole=100&show refs=1&show option=0 (In Russ.)
8. Degtyarik, S. M. Influence of plant extracts on the causative agents of aeromonosis and pseudomonosis in fish / S. M. Degtyarik, E. I. Grebneva, G. V. Slobodnitskaya, N. A. Benetskaya, E. V. Maksimyuk, A. V. Bespaly // Issues of fisheries in Belarus.2016:32:249-261. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=28114134
9. Nya, E. J. Use of garlic, Allium sativum, to control Aeromonas hydrophila infection in rainbow trout, Oncorhynchusmykiss (Walbaum) / E. J. Nya, B. Austin // J. Fish Diseases.2009:32;11:963-970.
10. Sahu, S. Effect of Allium sativum on the immunity and survival of Labeorohita infected with Aeromonashydrophila / S. Sahu, B. K. Das, B. K. Mishra, J. Pradhan, N. Sarangi // J. Appl. Ichthyol.2007:23;1:80-86.
11. Immanuel, G. Dietary medicinal plant extracts improve growth, immune activity and survival of tilapia *Oreochromismossambicus* / G. Immanuel, R. P. Uma, P. Iyapparaj, T. Citarasu, S. M. Punitha Peter, M. Michael Babu, A. Palavesam // J. Fish Biol.2009:74;7:1462-1475.
12. Tkachenko, H. The antibacterial activity of the ethanolic leaf extract of Ficus Pumilla L. (MORACEAE) against Fich Bacterial Patogens / H. Tkachenko, L. Buyun, O. Kasiyan, E. Terech-Majewska, Z. Osadowski // Scientific Journal of the Far East State Technical Fisheries University.2018:2;45:20-30.
13. Pravdin, P. F. Guide to the study of fish (mainly freshwater) / P. F. Pravdin. – Moscow: "Pishch. Prom-t", 1966:250. (In Russ.)
14. Reznikov, V. F. Standard model of fish mass accumulation / V. F. Reznikov, S. A. Baranov, E. A. Starikov, G. I. Tolchinsky // Mechanization and automation of fish farming and fishing in inland waters: collection. scientific tr. – Moscow: "VNIIPRH", 1978:77:12-14.
15. Castell, J. D. Report of the EIFAC, IUNS and ICES Working Group on the standardization of the methodology in fish nutrition research / J. D. Castell, K. Tiews // Hamburg, (Federal Republic of Germany, March 21-23, 1979), European Inland Fisheries Advisory Commission. Technical paper 36.1979:1-24.
16. Burlachenko, I. V. Current issues of feed safety in fish aquaculture / I. V. Burlachenko. – Moscow: Publishing House "VNIRO", 2008:183. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=24087440 (In Russ.)
17. Kuzmina, V. V. The influence of antibacterial drugs and probiotics on the activity of enzymes in the intestinal mucosa of the carp Cyprinuscarpio. 2. Proteinases / V. V. Kuzmina, D. V. Mikryakov, M. V. Shalygin, K. V. Gavrilin // Problems of biology of productive animals.2011:4:18-22. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=17949141 (In Russ.)
18. Use of ellagitannins in aquaculture diets. 2020. URL: https://apknews.su/article/213/2594/ (date of access 04.08.2021).
19. Zekov, D. D. Determination of effective rates of introduction of the feed additive Aquatan into the diet of rainbow trout with a biological assessment of the effect on fishery indicators / D. D. Zekov, M. V. Ulyanov, D. V. Mikryakov, T. A. Suvorova // Fish farming and fish farming.2021:11:66-77. – DOI: 10.33920/sel09211106. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47327779 (In Russ.)

УДК:619.615.254:636.4
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.4.133

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНАХ РЕПРОДУКЦИИ САМОК НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ФИТОПРЕПАРАТА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Бойко Т.В. – д-р ветеринар. наук, доц., зав. кафедрой диагностики, внутренних незаразных болезней, фармакологии, хирургии и акушерства; **Огурной И.В.** *– асп.; **Кошкарев М.В.** – канд. ветеринар. наук, доц.

Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина

*iv.ogurnoy36.06.01@omgau.org

Ключевые слова: *фитопрепараты, заболевания послеродового периода у коров, морфология матки и яичников.*

Key works: *herbal remedies, diseases of the postpartum period in cows, morphology of the uterus and ovaries.*

Поступила: 05.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

В работе представлены результаты оценки морфологических изменений в матке и яичниках лабораторных животных на фоне введения терапевтических доз полифункционального фитопрепарата, в состав которого входят экстракты спиртовые из растений: *чемерица белая (Veratrum album), крапива двудомная (Urtica dioica), тысячелистник обыкновенный (Millefolii herba)* и обладающего руминаторным, утеротоническим, гемостатическим и противовоспалительным эффектами. Испытывали терапевтические дозы для коров, которые для крыс составили 0,2 мл на голову. Фитопрепарат вводили подкожно трехкратно, через день. Крысам контрольной группы подкожно вводили физиологический раствор натрия хлорида (NaCI 0,9 %) по той же схеме. При изучении микропрепаратов использовали методы цифровой микроскопии. При морфометрическом анализе гистоархитектоники матки установлено статистически значимое увеличение диаметра поперечного среза матки самок крыс опытной группы на 25,8 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с группой контроля за счет увеличения эпителиальной на 24,5 % ($p \leq 0,05$) и собственной пластинки эндометрия слизистой оболочки матки на 32 % ($p \leq 0,05$), что свидетельствует о повышении секреторной активности эпителиального покрова матки. В опытной группе крыс, получавших фитопрепарат, отмечали достоверное увеличение на 46 % ($p \leq 0,05$) количества примордиальных фолликулов. Также регистрировали тенденцию к увеличению количества первичных – на 36,3 %, вторичных – на 41,7%, третичных – на 75% фолликулов и желтых тел – на 22,2% у крыс опытной группы по сравнению с показателями контроля. Количественные показатели фолликулярного состава яичников крыс опытной группы и повышение коэффициента вызревания фолликулов на 60 % ($p \leq 0,05$) свидетельствуют о стимуляции овариального резерва на фоне применения фитопрепарата.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Важным фактором сдерживания роста воспроизводства скота и его продуктивности являются акушерско-гинекологические патологии – дисфункции половых гонад и острый послеродовой эндометрит у коров. По материалам гинекологических исследований бесплодных коров на промышленных фермах около 30 % животных имеют разные формы воспаления матки и около 45 % коров – функциональные нарушения яичников. Следует отметить, что коровы с гипофункцией яичников в раннем послеотельном периоде в 87,9 % случаях переболевали гнойно-катаральным и в 12 % фибринозным эндометритом, при этом была доказана прямая корреляция между тяжестью воспалительного процесса в матке и формой функциональных нарушений яичников [4, 5].

Известно, что послеродовый период сопровождается сложными инволюционными процессами в органах репродуктивной системы самок и в первую очередь в матке, в мышечном слое которой происходят дегенеративные и атрофические процессы, приводящие к уменьшению мышечных волокон в объеме. Продолжительность инволюции матки зависит от сократительной активности мышечных волокон, регуляция которых осуществляется нервно-гуморальными стимулами. Слабость сократительной деятельности матки неизбежно приводит к субинволюции, а на фоне снижения резистентности – к развитию воспалительных процессов в органе [8, 14, 15].

Следует отметить, что существующий в настоящее время в ветеринарии системный подход профилактики и лечения акушерско-гинекологических патологий, основанный на фармакокоррекции препаратами гормонов и утеротониками негормональной природы в комбинации с противомикробными средствами, экономически затратен для сельхозпроизводителей, кроме того способствует развитию толерантности рецепторов к действию гормонов, а также формированию антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов и, как следствие – значительному снижению терапевтической и профилактической эффективности проводимых мероприятий. Важно подчеркнуть, что многотоннажное применение гормонов, антибиотиков, противовоспалительных средств в животноводстве является основной причиной фармацевтического загрязнения окружающей среды, негативного их воздействия на животных и гидробионтов [1, 7, 11, 16]. Учитывая высокую актуальность проблемы и перспективность дальнейшего ведения экологичного животноводства авторами разработан состав полифункционального фитопрепарата на основе спиртовых экстрактов лекарственных растений: *чемерица белая (Veratrum album), крапива двудомная (Urtica dioica) и тысячелистник обыкновенный (Millefolii herba)*. В доклинических исследованиях определены параметры безопасности, в пилотных испытаниях на продуктивных животных подтверждены утеротонический, руминаторный, гемостатический, противовоспалительный и иммуностимулирующий эффекты фитопрепарата [2, 3].

На сегодняшний день уже известны способы лечения и профилактики заболеваний послеродового периода у коров альтернативными средствами, например, фитопрепаратами и пробиотиками [2, 13]. Сведения о морфофункциональных изменениях в органах репродукции самок на фоне применения фитопрепаратов расширяют представление об их действии, открывая перспективы их успешного применения в ветеринарии [3]. При этом морфологические методы исследования позволяют с очевидной доказательностью судить о функции нейрогормональной регуляции половой цикличности органов репродукции, а лабораторные животные служат наилучшей экспериментальной моделью, позволяющей оценить влияние фитопрепаратов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS OF METHOD

Исследование проводили на здоровых, половозрелых животных – белых лабораторных крысах породы Wistar в возрасте

2,5-3 месяца. Объектами исследования являлись фитопрепарат, обладающий утеротоническим, гемостатическим, руминаторным, противовоспалительным и иммуностимулирующим эффектами и лабораторные животные. Предмет исследования – морфологическая картина матки и яичников экспериментальных животных при применении фитопрепарата. Исследовательские работы с лабораторными животными выполняли в соответствии с общепринятыми этическими нормами обращения с животными, на основе стандартных операционных процедур, которые соответствуют правилам, изложенным в ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила работы с лабораторными грызунами и кроликами».

Лабораторных животных содержали в стандартных условиях вивария факультета ветеринарной медицины ИВМиБ ФГБОУ ВО Омский ГАУ в пластиковых клетках на 10 голов со свободным доступом к воде и корму, при температуре 18-23° С, в условиях 12-ти часового светового периода.

Крысам экспериментальной группы вводили исследуемый фитопрепарат в дозе 0,2 мл. на голову, подкожно, трехкратно, через день. Животным группы контроля вводили физиологический раствор натрия хлорида по той же схеме.

Выведение животных из эксперимента осуществляли путем их обескровливания на фоне медикаментозного наркоза.

Для гистологического исследования у экспериментальных животных были отобраны образцы матки и яичников. Полученный материал фиксировали в 10%-ном забуференном растворе формальдегида и отправляли в лабораторию для изготовления микропрепаратов. Микрофотосъемку гистологических препаратов проводили на микроскопе «Альтами БИО 1» с использованием цифровой окулярной USB-камеры USMOSO3100KPA. Морфометрию органов осуществляли с помощью программы Altami Studio 3.2. Диаметр поперечного среза матки определяли по короткой стороне поперечного среза органа, площадь органов измеряли в автоматическом режиме, используя фигуры программы.

Статистический анализ выполняли с помощью программного обеспечения Statistica 10.0 (Statsoft, США). Показатели представлены в виде среднего значения (Mean) и ошибки средней (±sem). Для определения различий между независимыми выборками использовали U-критерий Манна-Уитни. Межгрупповые различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты микроскопического исследования матки экспериментальных животных. Матка животных опытной и контрольной групп имела четко выраженные слои, которые представлены: слизистой оболочкой (эндометрий), мышечным слоем (миометрий) и серозной оболочкой (периметрий), а также имела слой жировой клетчатки (параметрий).

Эндометрий выстлан однослойным призматическим эпителием, имел четко выраженные базальный и функциональные слои. Базальный слой содержит сосудистую сеть, которая обеспечивает васкуляризации эндометрия. Функциональный слой располагается поверх базального и имеет разветвленные маточные железы, которые продуцируют секрет, служащий для питания зародыша на ранних этапах эмбриогенеза.

Миометрий представлен наружным и внутренним мышечным слоями, между которыми располагаются кровеносные сосуды. В наружном слое миометрия клетки миоцитов располагаются в продольном направлении рога матки, во внутреннем слое – в циркулярном направлении (Рис.1; Рис.2).

Эпителиальная пластинка представлена однослойным призматическим эпителием, участками многорядным. В составе эпителия определяют реснитчатые, железистые, а также базальные клетки. Форма ядер эпителиоцитов варьирует от округлой до вытянутой эллипсовидной при увеличении высоты эпителия (Рис.3). У крыс опытной группы, получавшей фито-

препарат, маточные железы имеют более разветвленный характер с выраженным просветом округлой или слегка вытянутой формы. Поперечный срез рога матки у животных этой группы имел более округлую форму, чем в контроле (рис.4).

При морфометрическом исследовании основных гистологических структур рога матки самок крыс опытной группы было отмечено достоверное увеличение диаметра поперечного среза на 25,8 % (p=0,001) по сравнению с показателем контрольной группы (табл. 1).

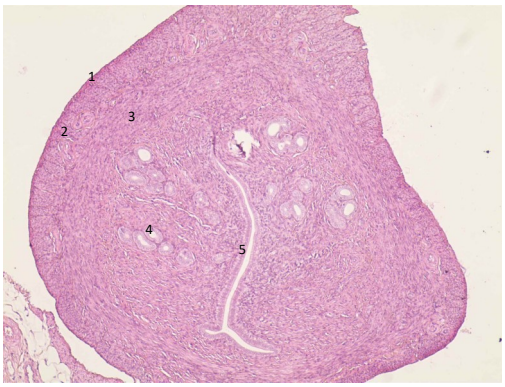


Рисунок 1 – Поперечный срез матки крысы 1 опытной группы. Ув. ×100. 1 –серозная оболочка, 2 – наружный гладкомышечный слой, 3 – внутренний гладкомышечный слой, 4– собственная пластинка эндометрия, 5– эпителиальная пластинка эндометрия.

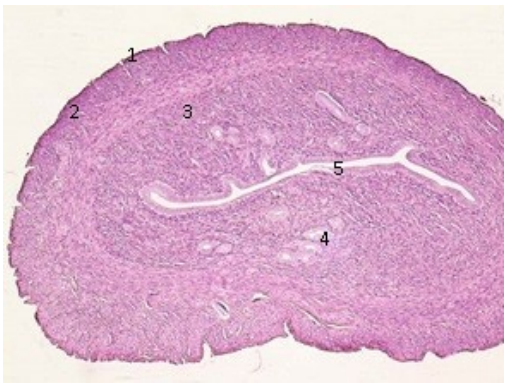


Рисунок 2 – Поперечный срез матки крысы контрольной группы Ув. ×100. 1 – серозная оболочка, 2 – наружный гладкомышечный слой, 3 – внутренний гладкомышечный слой, 4 –собственная пластинка эндометрия, 5–эпителиальная пластинка эндометрия.

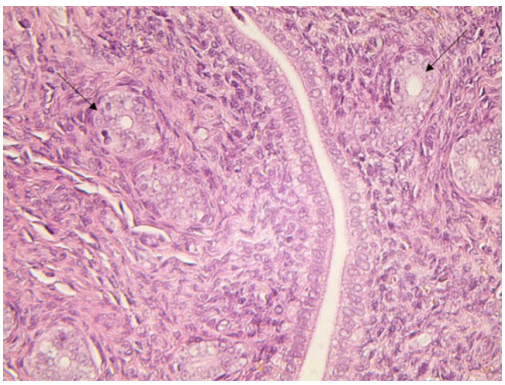


Рисунок 3 – Слизистая оболочка матки крысы опытной группы. Ув.×300. Маточные железы отмечены стрелкой.

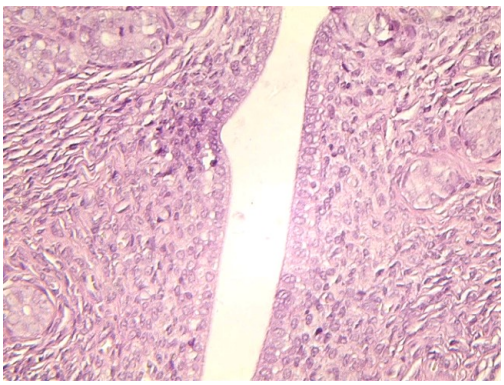


Рисунок 4 – Слизистая оболочка матки крысы контрольной группы. Ув.×300. Маточные железы отмечены стрелкой.

Таблица 1 – Морфометрические показатели рога матки самок белых крыс, M±m (n=6)

Показатели	Контроль	Опытная группа
Диаметр поперечного среза, мкм	865,14±33,19	1088,06±15,18*
Площадь поперечного среза, $\times 10^3$ мкм2	1105,10±120,38	1168,89±34,54
Толщина наружного (продольного) гладкомышечного слоя, мкм	68,99±3,17	75,95±3,79
Толщина внутреннего (циркулярного) гладкомышечного слоя, мкм	69,64±2,97	69,03±2,30
Толщина собственной пластинки эндометрия, мкм	186,34±7,70	245,97±14,01*
Толщина эпителиальной пластинки эндометрия, мкм	15,30±0,35	19,05±0,55*

*Примечание - * – $P \leq 0,05$*

При морфометрическом анализе гистоархитектоники матки установлено статистически значимое увеличение диаметра поперечного среза матки самок крыс опытной группы на 25,8 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с группой контроля за счет увеличения эпителиальной на 24,5 % ($p \leq 0,05$) и собственной пластинки эндометрия слизистой оболочки матки на 32 % ($p \leq 0,05$) (табл. 1). Учитывая, что эпителиальная пластинка пронизана маточными железами (криптами), увеличение данного показателя в опытной группе может свидетельствовать об усилении секреторной активности эпителиального покрова [6]. Помимо секреторной функции, маточные железы участвуют в процессе регенерации эпителия матки. Кроме того, увеличение толщины эпителиальной пластинки эндометрия может свидетельствовать об активизации рецепторов к эстрогену и прогестерону [9, 12]. В работе Мальцевой Л. И. с соавторами (2012) подчеркнуто, что несмотря на эстрогеночувствительность клеток эндометрия они пролиферируют не в результате прямого воздействия эстрадиола, а воздействуя на стромальные клетки, провоцируют синтез ростовых факторов эпителиальных клеток, что стимулирует синтез ДНК и размножение соседних клеток эпителия [14]. В исследованиях Лобанова В. С и А. В. Филатова (2020), изучивших гистологическую картину матки при введении прогестеронсодержащего препарата Прогестемаг ремонтным свинкам в терапевтических дозах, также установлено увеличение толщины слизистой оболочки матки и маточных желез, что расценивается авторами как положительный эффект, понижающий показатель эмбриональных потерь у свиноматок [10].

Результаты микроскопического исследования яичников экспериментальных животных. Гистологическая картина яичников крыс зависела от функционального состояния органа. У крыс опытной и контрольной групп яичники соответствовали физиологическому состоянию стадии диэструса, на что указывает наличие сформированных желтых тел (Рис.5), а также наличие фолликулов на различных стадиях созревания: примордиальных, первичных, вторичных, третичных и атретичных (Рис. 6, 7). Стадия диэструса в организме характеризуется снижением уровня эстрогенов, начинается с окончания периода фертильности самки и сопровождается высокой активностью гормона прогестерона для подготовки эндометрия к беременности, с падением уровня прогестерона в крови самок начинается период анэструса [9]. Созревшие (третичные) фолликулы отличались крупными размерами хорошо выраженными полостями, сформированной двухслойной текой с

внутренним слоем, состоящим из клеток с округлыми ядрами и внешним, состоящим из клеток волокнистой ткани и крупным ооцитом с блестящей оболочкой. В опытной группе, примордиальные фолликулы располагались группами в корковом слое по 2-3 фолликула (Рис.8), что свидетельствует об активизации процесса фолликулогенеза. Тогда как в контрольной группе встречались в основном одиночные фолликулы (рис. 6).

Количественные показатели фолликулов в гистологических срезах контрольной и опытной групп наглядно отражают функциональное состояние яичников (Табл. 2).

В опытной группе крыс, получавших фитопрепарат, отмечали достоверное увеличение на 46 % ($p \leq 0,05$) количества примордиальных фолликулов. Также регистрировали тенденцию к увеличению количества первичных– на 36,3 %, вторичных – на 41,7%, третичных – на 75% фолликулов и желтых тел – на 22,2% у крыс опытной группы по сравнению с показателями контрольной группы животных. Количественные показатели фолликулярного состава яичников крыс опытной группы и повышении коэффициента вызревания фолликулов на 60% свидетельствуют о стимуляции овариального резерва на фоне применения фитопрепарата.

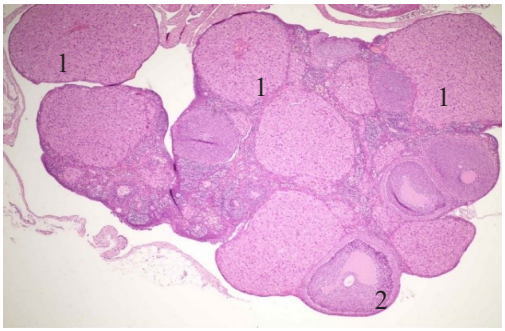


Рисунок 5 – Яичник крысы контрольной группы Ув.×60. 1– желтое тело яичника, 2 – сформированный фолликул. Окраска гематоксилином и эозином.

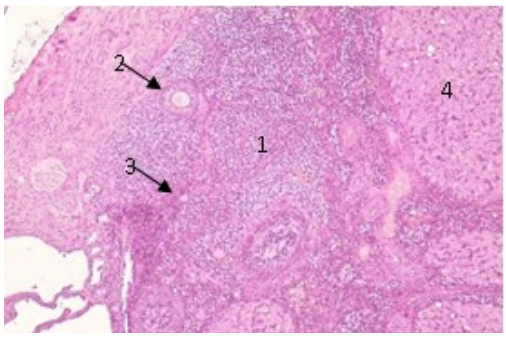


Рисунок 6 – Яичник крысы контрольной группы Ув.×150. 1 – мозговой слой яичника, 2 – первичный фолликул, 3 –примордиальный фолликул, 4 – желтое тело. Окраска гематоксилином и эозином.

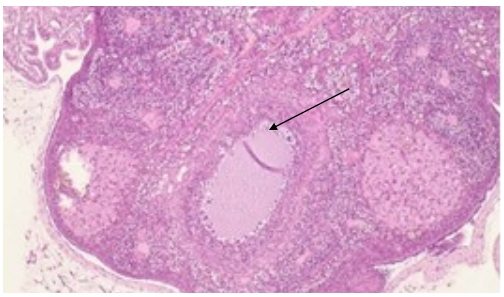


Рисунок 7 – Атрезия фолликула яичника крысы опытной группы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. ×150

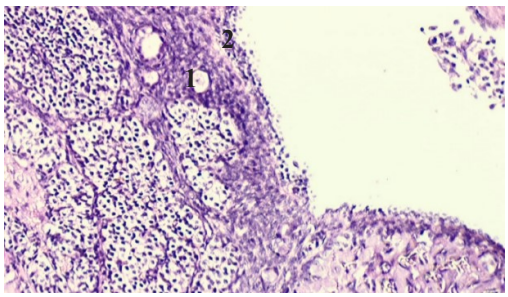


Рисунок 8 – Яичник крысы опытной группы. 1 – первичный фолликул, 2 – примордиальный фолликул. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. ×250.

Таблица 2 – Фолликулярный состав яичников самок белых крыс

Показатели, ед.	Контроль	Фитопрепарат
Примордиальные фолликулы	6,16±0,7	9,00±1,23*
Первичные фолликулы	1,83±0,54	2,50±0,76
Вторичные фолликулы	2,00±0,44	2,83±0,79
Третичные фолликулы	0,66±0,21	1,16±0,40
Атретичные фолликулы	2,00±0,37	1,83±0,31
Желтые тела	6,00±0,93	7,33±1,94
Коэффициент вызревания фолликулов (первичные, вторичные и третичные фолликулы / атретические)	5,3	8,5

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, наблюдаемые морфологические изменения матки и яичников крыс, ассоциированные с введением фитопрепарата дозе 0,2 мл подкожно, трехкратно, через день, свидетельствуют о стимулирующем его влиянии на секреторную активность эпителиального покрова матки и фолликулогенез.

MORPHOLOGICAL PICTURE OF THE UTERUS AND OVARIES OF RATS AGAINST THE BACKGROUND OF THE USE OF A POLYFUNCTIONAL PHYTOPREPARATION

Boyko T.V. – Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Diagnostics, Internal Non–infectious Diseases, Pharmacology, Surgery and Obstetrics; **Ogurnoy I.V.*** – asp.; **Koshkarev M.V.** - Candidate of Medical Sciences. veterinarian. sciences, assoc.

Omsk State Agrarian University named after. P.A. Stolypin

***mv.koshkarev@omgau.org**

ABSTRACT

The paper presents the results of the assessment of morphological changes in the uterus and ovaries of laboratory animals against the background of the introduction of therapeutic doses of a multifunctional phytopreparation, which includes alcohol extracts from plants: white hellebore (Veratrum album), dioecious nettle (Urtica dioica), yarrow (Millefolii herba) and has rumination, uterotonic, hemostatic and anti-inflammatory effects. Therapeutic doses for cows were tested, which for rats amounted to 0.2 ml per head. The phytopreparation was administered subcutaneously three times, every other day. The control group rats were subcutaneously injected with a saline solution of sodium chloride (NaCI 0.9%) according to the same scheme. The methods of digital microscopy were used in the study of micropreparations. Morphometric analysis of the histoarchitectonics of the uterus revealed a statistically significant increase in the diameter of the cross-section of the uterus of female rats of the experimental group by 25.8% ($p \leq 0.05$) compared with the control group due to an increase in the epithelial by 24.5% ($p \leq 0.05$) and the endometrial lamina of the uterine mucosa by 32% ($p \leq 0.05$), which indicates on increasing the secretory activity of the epithelial cover of the uterus. In the experimental group of rats treated with phytopreparation, a significant increase of 46% ($p < 0.05$) in the number of primordial follicles was noted. There was also a tendency to increase the number of primary – by 36.3%, secondary – by 41.7%, tertiary – by 75% of follicles and yellow bodies – by 22.2% in rats of the experimental group compared with the control indicators. Quantitative indicators of the follicular composition of the ovaries of rats of the experimental group and an increase in the follicle aging coefficient by 60% ($p \leq 0.05$) indicate stimulation of the ovarian reserve against the background of the use of phytopreparation.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Балагула Т.В., Лаврухина О.И., Батов И.В., Макаров Д.А. Третьяков А.В. Анти-

биотики в ветеринарии: загрязнение продукции животноводства /. – Международный вестник ветеринарии. 2022. – №4 – С 174-180. DOI.org/10.52419/issn2072-2419.2022.4.174

2. Бойко Т. В., Веретенникова В. С., Лукша Е. А. Средство для лечения и профилактики послеродовых заболеваний у коров / Патент на изобретение РФ №2719225. -2020 г. – Электронный ресурс. – Точка доступа. -https://www.elibrary.ru/item.asp?Id=42712292

3. Бойко Т.В., Огурной И.В., Дочилова Е.С. Морфофункциональные изменения в органах репродуктивной системы самок при патологии на фоне применения фитопрепаратов (обзор) // Вестник ОмГАУ. 2022. – №4 (48). URL: https://cyberleninka.ru/article/n/morfofunktsionalnye-izmeneniya-v-organah-reproduktivnoy-sistemy-samok-pri-patologii-na-fone-primeneniya-fitopreparatov-obzor (дата обращения: 24.07.2023). DOI 10.48136/2222-0364_2022_4_94

4. Гальченко В.А., Лисиченко Г.О. Определение эффективности ультразвукового исследования яичников при синхронизации половой охоты у коров /В.А. Гальченко, О.Г. Лисиченко // Международный вестник ветеринарии. 2022. – №1. – С180-185. DOI.org/10.52419/issn2072-2419.2022.1.180

5. Горпинченко Е. А., Коба И. С., Лифенцова М. Н. Факторы, способствующие возникновению функциональных расстройств родополового аппарата у коров // Научный журнал КубГАУ. 2016. – №121. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/faktory-sposobstvuyuschie-vozniknoveniyu-funktsionalnyh-rasstroystv-rodopolovogo-apparata-u-korov (дата обращения: 24.07.2023). DOI: 10.21515/1990-4665-121-112

6.Камерницкий А. В., Левина И. С., Куликова Л. Е., Милованов А. П. Морфологические изменения тканей матки крысы под влиянием прогестинов и антипрогестинов ряда прегна-я-пентарана / Биоорганическая химия. 2002. – Т. 28. – №3. С. 261-268. DOI: 577.127.2:611.66:618.63

7. Киреев И.В., Пьянов Б.В. Применение антиоксидантного противовоспалительного препарата в комплексных схемах терапии эндометрита у коров/ И.В. Киреев, Б. В Пьянов // Международный вестник ветеринарии. 2019. – №3. – С22-25. DOI: 636.2.034: 616-008.9

8. Кобаидзе Е.Г., Падруль М. М. Нарушение функции эндометрия при хронических воспалениях матки // Пермский медицинский журнал. 2014. №5. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/narushenie-funktsii-endometriya-pri-hronicheskih-vospaleniyah-matki (дата обращения: 20.03.2023). DOI: 145.008.6.02:618.14-002.2

9. Котельников А. В., Котельникова С. В. Характеристика эстрального цикла белых крыс на разных стадиях развития онтогенеза при введении витамина Е // Вестник АГТУ. 2005. – №3. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/harakteristika-estralnogo-tsikla-belyh-krys-na-raznyh-etapah-ontogeneza-pri-vvedenii-vitamina-e (дата обращения: 20.03.2023). DOI: 577.161.3:591.8:612.65

10. Лобанов, В. С. Гистологическая структура матки свиней под воздействием прогестерона / В. С. Лобанов, А. В. Филатов // Молодежная наука - развитию агропромышленного комплекса : Материалы Всероссийской (национальной) научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, Курск, 03 –04 декабря 2020 года. Том Часть 2. – Курск: Курская государственная сельскохозяйственная академия имени И.И. Иванова, 2020. – С. 195-200. – EDN NBQSWO.

11. Лунегов, А. М. Проблема фармацевтического загрязнения окружающей среды / А. М. Лунегов // Теория и практика ветеринарной фармации, экологии и токсикологии в АПК : материалы международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию кафедры фармакологии и токсикологии СПбГУВМ, Санкт-Петербург, 19–21 мая 2021 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2021. – С. 145-147.

12. Лызикова Ю. А. Хронический эндо-

метрит как причина индивидуальной репродуктивной функции у женщин // Проблемы здоровья и экологии. 2015. №3 (45). URL: https://cyberleninka.ru/article/n/hronicheskiy-endometrit-kak-prichina-narusheniy-reproduktivnoy-funktsii-u-zhenschin (дата обращения: 20.03.2023). DOI: 618.14-002-036.12

13. Перспектива решения акушерско-гинекологической патологии у коров на промышленной ферме / А. Н. Турченко, И. С. Коба, Е. Н. Новикова [и др.] // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2012. – № 34. – С. 194-196.

14. Мальцева, Л. И. Хронический эндометрит и тазовая боль / Л. И. Мальцева, Г. Р. Смолина, Е. Ю. Юпатов // Акушерство. Гинекология. Репродукция. – 2012. – Т. 6. – № 3. – С. 23–27. DOI: 10.17116/2015154102-105

15. Чуев С.А., Рядинская А.А., Лавриенко К.В. и соавт. Физиолого-биохимические показатели при стимуляции репродуктивной функции коров. Монография / Электронный ресурс. – Точка доступа. - https://books.google.ru/books?hl

16. Lyu, J. Antibiotics in soil and water in China – a systematic review and source analysis / J. Lyu, L. Yang, L. Zhang, B. Ye, L. Wang // Environ. Pollut. – 2020. – V. 266. Part 1. – 115147. DOI: org/10.1016/j.envpol.2020.115147

REFERENCES

1. Balagula T.V., Lavrukhina O.I., Batov I.V., Makarov D.A. Tretyakov A.V. Antibiotics in veterinary medicine: contamination of livestock products / - – St. Petersburg 2022, No. 4. International Bulletin of Veterinary Medicine. From 174-180. DOI.org/10.52419/issn2072-2419.2022.4.174

2. Boyko T.V., Veretennikova V.S., Luksha E.A. A remedy for the treatment and prevention of postpartum diseases in cows / Russian Federation patent for invention No. 2719225. -2020 – Electronic resource. - Access point. -https://www.elibrary.ru/item.asp?Id=42712292

3. Boyko T.V., Ogurnoy I.V., Dochilova E.S. Morphofunctional changes in the organs of the reproductive system of females in pathology due to the use of herbal medicines (review) // Bulletin of OmSAU. 2022. No. 4 (48). URL: https://cyberleninka.ru/article/n/morfofunktsionalnye-izmeneniya-v-organah-reproduktivnoy-sistemy-samok-pri-patologii-na-fone-primeneniya-fitopreparatov-obzor (date of access: 07/24/2023). DOI 10.48136/2222-0364_2022_4_94

4. Galchenko V.A., Lisichenko G.O. Determination of the effectiveness of ultrasound examination of the ovaries in synchronizing sexual heat in cows / V.A. Galchenko, O.G. Lisichenko – St. Petersburg 2022, No. 1. International Bulletin of Veterinary Medicine. S180-185. DOI.org/10.52419/issn2072-2419.2022.1.180

5. Gorpinchenko E. A., Koba I. S., Lifentsova M. N. Factors contributing to the occurrence of functional disorders of the reproductive apparatus in cows // Scientific journal of KubSAU. 2016. No. 121. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/faktory-sposobstvuyuschie-vozniknoveniyu-funktsionalnyh-rasstroystv-rodopolovogo-apparata-u-korov (date of access: 07/24/2023). DOI: 10.21515/1990-4665-121-112

6. Kamernitsky A.V., Levina I.S., Kulikova L.E., Milovanov A.P. Morphological changes in rat uterine tissue under the influence of progestins and antiprogestins of the pregnaya-pentaran series / Bioorganic chemistry, 2002, volume 28, no. 3, p261-268. DOI: 577.127.2:611.66:618.63

7. Kireev I.V., Pyanov B.V. The use of an antioxidant anti-inflammatory drug in complex treatment regimens for endometritis in cows / I.V. Kireev, B.V. Pyanov - St. Petersburg 2019, No. 3. International Bulletin of Veterinary Medicine. S22-25. DOI: 636.2.034: 616-008.9

8. Kobaidze E.G., Padrul M.M. Endometrial dysfunction in chronic inflammation of the uterus // Perm Medical Journal. 2014. No. 5. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/narushenie-funktsii-endometriya-pri-hronicheskih-vospaleniyah-matki (date of access: 03/20/2023). DOI: 145.008.6.02:618.14-002.2

9. Kotelnikov A.V., Kotelnikova S.V. Characteristics of the estrous cycle of white rats at different stages of ontogenesis with the introduction of vitamin E // Vestnik ASTU. 2005. No. 3. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/harakteristika-estralnogo-tsikla-belyh-krys-na-raznyh-etapah-ontogeneza-pri-vvedenii-vitamina-e (access date: 03/20/2023). DOI: 577.161.3:591.8:612.65
10.Lobanov, V. S. Histological structure of the pig uterus under the influence of progesterone / V. S. Lobanov, A. V. Filatov // Youth science - development of the agro-industrial complex: Materials of the All-Russian (national) scientific-practical conference of students, graduate students and young people scientists, Kursk, December 03–04, 2020. Volume Part 2. – Kursk: Kursk State Agricultural Academy named after I.I. Ivanova, 2020. – P. 195-200. – EDN NBQSWO.
11. Lunegov, A. M. Quaestio de pharmaceutica pollutione circa ambitum / A. M. Lunegov // Theoria et praxis pharmaceuticae veterinariae, ecologiae et toxicologiae in complexu agro-industriali: materias scientificae et practicae collationis internationalis in C anniversario Dicasterii dicatae. St. Petersburg, St. Petersburg, St. Petersburg, p. - St. Petersburg: St. Petersburg. -EDN SULESM
12. Prospects for solving obstetric and gynecological pathology in cows on an industrial farm / A. N. Turchenko, I. S. Koba, E. N. Novikova [etc.] // Proceedings of the Kuban State Agrarian University. – 2012. – No. 34. – P. 194-196. – EDN OQOYQP.
13. Lyzikova Yu. A. Chronic endometritis as a cause of individual reproductive function in women // Problems of health and ecology. 2015. No. 3 (45). URL: https://cyberleninka.ru/article/n/hronicheskiy-endometrit-kak-prichina-narusheniy-reproduktivnoy-funktsii-u-zhenschin (date of access: 03.20.2023). DOI: 618.14-002-036.12
14. Maltseva, L. I. Chronic endometritis and pelvic pain / L. I. Maltseva, G. R. Smolina, E. Yu. Yupatov // Obstetrics. Gynecology. Reproduction. - 2012. - T. 6, No. 3. - P. 23–27. DOI: 10.17116/2015154102-105
15. Chuev S.A., Ryadinskaya A.A., Lavrienko K.V. et al. Physiological and biochemical indicators when stimulating the reproductive function of cows. Monograph / Electronic resource. - Access point. - https://books.google.ru/books?hl
16. Lyu, J. Antibiotics in soil and water in China – a systematic review and source analysis / J. Lyu, L. Yang, L. Zhang, B. Ye, L. Wang // Environ. Pollut. – 2020. – V. 266. Part 1. – 115147. DOI: org/10.1016/j.envpol.2020.115147

УДК: 619-615.33
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.143

ИЗУЧЕНИЕ БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТИ ПРЕПАРАТОВ ДОКСИТРОН ЖЕВАТЕЛЬНЫЕ ТАБЛЕТКИ И РОНАКСАН ПРИ ПРИМЕНЕНИИ СОБАКАМ

Комаров А.А.[1*] – д-р биол. наук, проф. РАН, (ORCID 0000-0003-2799-6760); **Енгашев С.В.**[2] – д-р ветеринар. наук, акад. РАН, проф., (ORCID 0000-0002-7230-0374); **Селимов Р.Н.**[3] **–** канд. ветеринар. наук, зав. лабораторией изучения фармакокинетики и метаболизма лекарственных средств; **Мироненко А.В.**[4] – канд. ветеринар. наук, магистр Института биохимической технологии и нанотехнологии, (ORCID 0000-0002-9701-3822); **Гончарова Е.Н.**[3] – канд. хим. н., ст. науч. сотр. лаборатории изучения фармакокинетики и метаболизма лекарственных средств, (ORCID:0000-0002-2207-3257); **Габидуллина Д.Э.**[3] – ст. науч. сотр. лаборатории изучения фармакокинетики и метаболизма лекарственных средств, (ORCID:0009-0007-8722-9009).

[1] ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)»
[2] ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»
[3] ООО «МИП «Академия инноваций»
[4] ФГБОУ ВО «РУДН имени Патриса Лумумбы»

*komarov.a@vetmag.ru

Ключевые слова: *Докситрон жевательные таблетки, Ронаксан, доксициклин, биоэквивалентность, фармакокинетика.*

Key words: *Doxytron chewable tablets, Ronaxan, doxycycline, bioequivalence, pharmacokinetics.*

Поступила: 06.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Проведено исследование по изучению биоэквивалентности препаратов «Докситрон жевательные таблетки» и «Ронаксан» при применении собакам. Было сформировано 2 группы животных по 4 собаки в каждой. Для опыта использовался перекрестный дизайн исследования. Отбор биологического материала (кровь) проводили до введения препаратов, и через 15, 30, 45 мин, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 24, 30, 48, 72 ч после введения препаратов. В процессе исследования контролировали следующие параметры: концентрации действующего вещества препаратов в плазме крови собак. В статье подробно описана схема опыта, реактивы и стандартные образцы, процесс пробоподготовки образов плазмы крови и ВЭЖХ-МС/МС анализ. Дана оценка биоэквивалентности препаратов «Докситрон жевательные таблетки» и «Ронаксан». Время достижения максимальной плазменной концентрации (T_{max}) в среднем составило 3.0 ч для исследуемого препарата «Докситрон жевательные таблетки» и 3.0 ч для референтного препарата «Ронаксан». Максимальная плазменная концентрация (C_{max}) составила 4007,4±964,4 нг/мл для исследуемого препарата «Докситрон жевательные таблетки» и 3794,9±1121,5 нг/мл для референтного препарата «Ронаксан». 90% доверительные интервалы соотношений C_{maxT}/C_{maxR} и $AUC_{0\text{-}tT}$/$AUC_{0\text{-}tR}$ доксициклина находятся в пределах диапазона 80-125 %. Препараты «Докситрон жевательные таблетки» и «Ронаксан» являются биоэквивалентными.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Современную ветеринарную медицину невозможно представить без антибиотикотерапии [4]. Тетрациклины известны человечеству после пенициллинов. Первый тетрациклин имел название – хлортетрациклин и был открыт в 1945 г. В середине 20 века синтезировали доксициклин, который в отличие от других тетрациклинов практически не угнетает микрофлору кишечника, имеет хорошую биодоступность. В настоящее время антибиотики на основе доксициклина остаются актуальными и препаратами выбора при лечении многих заболеваний домашних животных, вызванных бактериями, спирохетами, риккетсиями и хламидями [1; 3; 6-11].

Лекарственный препарат «Докситрон жевательные таблетки» (далее – исследуемый препарат), разработанный ООО «НВЦ Агроветзащита», выпускается в двух модификациях, содержащих в качестве действующих веществ в 1 таблетке: 20 мг и 100 мг доксициклина гиклата и вспомогательные вещества.

Препарат «Ронаксан» (далее – референтный препарат), производимый «Boehringer Ingelheim Animal Health France SCS», выпускается в двух модификациях, содержащих в качестве действующих веществ в 1 таблетке: 20 мг и 100 мг доксициклина гиклата и вспомогательные вещества. Выпускается в виде таблеток.

Доксициклина гиклат, входящий в состав препарата, относится к полусинтетическим антибиотикам третьего поколения тетрациклиновой группы. Обладает широким спектром антимикробного действия в отношении микоплазм, спирохет, хламидий, риккетсий, активен в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов.

Механизм бактериостатического действия доксициклина связан с угнетением энзимов, катализирующих связывание аминоацетил-РНК с рибосомальными акцепторами, что приводит к блокированию взаимодействия аминоацилтранспортной РНК с 30S-субъединицей рибосомальной мембраны и нарушению синтеза белка микробной клетки [5; 11-14].

Цель исследования – изучить фармакокинетическую биоэквивалентность препарата «Докситрон жевательные таблетки» и препарата «Ронаксан» при применении собакам.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования выполнялись согласно Приказу Министерства сельского хозяйства РФ от 6 марта 2018 г. N 101 «Об утверждении правил проведения доклинического исследования лекарственного средства для ветеринарного применения, клинического исследования лекарственного препарата для ветеринарного применения, исследования биоэквивалентности лекарственного препарата для ветеринарного применения» [2, 15].

Исследование проводилось в период с 2019-2022г. на базе ООО «МИП «Академия инноваций» и ООО «Калининградский областной центр ветеринарной медицины»

Схема опыта

Изучение биоэквивалентности препаратов проводилось на собаках (возраст: 1-2 г., масса: 20-25 кг, пол: ♂ ♀). Собаки не получали никаких лекарственных препаратов в течение 30 суток до начала эксперимента. Группы формировали по принципу аналогов.

Для опыта использовался перекрестный дизайн, что соответствовало требованиям нормативных документов [2; 15]. Схема опыта представлена в таблице 1.

Отбор биологического материала (кровь) проводили до введения препаратов, и через 15, 30, 45 мин, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 24, 30, 48, 72 ч после введения препаратов. Сразу после получения образцов кровь центрифугировали и отделяли плазму крови. Образцы плазмы крови собак до анализа хранили в замороженном виде при температуре не выше -18ºС и транспортировали в лабораторию в термоконейнерах на регулярном авиарейсе, а также при помощи специализированной логистической службы.

Таблица 1 – Схема опыта

	Группа 1 (T-R) (4 животных)	Группа 2 (R-T) (4 животных)
Период 1, 48 ч	Введение «Докситрон жевательные таблетки» однократно, перорально, в терапевтической дозе 10 мг препарата на 1 кг массы животного отбор проб в промежутке 0-72 ч	Введение «Ронаксан», однократно, перорально, в терапевтической дозе 10 мг препарата на 1 кг массы животного отбор проб в промежутке 0-72 ч
Период отмывки, 72 ч		
Период 2, 48 ч	Введение «Ронаксан» однократно, перорально, в терапевтической дозе 10 мг препарата на 1 кг массы животного отбор проб в промежутке 0-72 ч	Введение «Докситрон жевательные таблетки», однократно, перорально, в терапевтической дозе 10 мг препарата на 1 кг массы животного отбор проб в промежутке 0-72 ч

Таблица 2 – Параметры масс-спектрометрического определения веществ

Вещество	Ион прекурсор, m/z	Полярность	Ион продукт, m/z	Dwell time	Q1	CE	Q3
Доксициклин	445,1	+	428,0*	100	-20	-20	-17
			410,0	100	-20	-24	-16
Доксициклин-Д3	448,0	+	431,0*	50	-20	-20	-17
			413,0	50	-12	-23	-30

*Примечание: *более интенсивный MRM-переход.*

В процессе исследования контролировали следующие параметры: концентрации действующего вещества препаратов в плазме крови собак.

Реактивы и стандартные образцы

В исследовании использовали стандартные образцы доксициклина гикалата (99,3%, LGC STANDARDS, Великобритания) и доксициклин-Д3 гиклата (97%, TRC, Канада) в качестве внутреннего стандарта. Исходные растворы стандартных образцов с концентрацией 1 мг/мл готовили растворением точной навески аналита в соответствующем объеме метанола (для ВЭЖХ, J.T.Backer, США) в пересчете на читый доксициклин. В пробоподготовке использовали гидрофосфат натрия (99%, Acros, Бельгия), лимонную кислту (99%, PanReac Applichem, Испания), трилон Б (99%, PanReac Applichem, Испания), картриджи для твердофазной экстракции (ТФЭ) с собентом HLB 60 мг/30 мл (Biocomma Limited, Китай), муравьиную кислоту (98%, Scharlau, Испания). Деионизоанную воду для проведения анализа получали с помощью системы очистки воды Millipore Direct-Q (Merk KGaA, Германия).

ВЭЖХ-МС/МС анализ

Для анализа образцов использовали хромато-масс-спектрометр Shimadzu LCMS-8050 (Япония), хроматографическую колонку ZORBAX Eclipse Plus C18 2,1 x 100 мм, 3,5 мкм (Agilent Technologies, США) с предколонкой ZORBAX Eclipse Plus C18 2,1 x 12,5 мм, 5 мкм (Agilent Technologies, США). В качестве подвижных фаз использовали 0,5% муравьиную кислоту в воде (подвижная фаза А) и в метаноле (подвижная фаза Б). Хроматографическое разделение проводили в градиентном режиме в течение 7 минут от 100% подвижной фазы А до 100% подвижной фазы Б. температура хроматографической колонки составляла 30°С, скорость потока – 0,3 мл/мин. Для детектирования аналитов использовали метод «регистрации выбранных реакций» (MRM) согласно таблице 2. Для количественного определения использо-

вали наиболее интенсивный MRM-переход.

Пробоподготовка образцов плазмы крови

К плазме крови (0,3 мл) вносили 90 мкл внутреннего стандарта с концентрацией 1 мкг/мл и 3 мл буферного раствора, состоящего из смеси 600 мл ратвора лимонной кислоты (0,1М) и 400 мл раствора гидрофосфата натрия (0,2М) с добавкой 37,2 г трилона Б. Полученную смесь перемешивали в течение 10 минут и центрифугировали при 4500 об/мин в течение 10 минут. Супернатант наносили на картридж HLB, предварительно подготовленные 3 мл метанола и 3 мл деионизованной воды. Затем картридж промывали 6 мл деионизованной водой и элюировали аналиты 3 мл подвижной фазы Б. 1 мл полученного экстракта фильтровали через нейлоновый мембранный фильтр (0,22 мкм) и использовали для ВЭЖХ-МС/МС анализа.

Валидация

Использованный в работе метод анализа был валидирован согласно требованиям международных нормативных документов [20 – 21]. Градуировочная характеристика строилась при помощи матричных градуировочных образцов. Диапазон линейности составил 5-4000 нг/мл плазмы. Правильность составила 6%, а межсерийная перцизионность – 8%. Абсолютная степень извлечения доксициклина составила 94%.

Биоэтическая комиссия и легитимность проведения клинического исследования.

В соответствии с положениями Директивы ЕС 2010/63 «О защите животных, использующихся для научных целей» и Евразийскими клиническими рекомендациями: «Стратегия и тактика рационального применения антимикробных средств в амбулаторной практике» 2016 г. до начала проведения настоящего исследования «Комитетом по клиническим исследованиям ООО «НВЦ Агроветзащита» совместно с практикующими ветеринарными врачами ООО «Калининградский областной центр ветеринарной медицины» была проведена биоэтическая комиссия и составлен соответствующий протокол № 04/05/22-КИ от 15.08.2022г.

Проведение настоящего клинического исследования было согласовано и одобрено Федеральной службой по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор), письмо № ФС-НВ-2 \23643 от 06.09.2019г.

Статистическая обработка данных

Статистическую обработку полученных результатов проводили стандартными методами с использованием програмного обеспечения Microsoft Excel 2013. Расчет фармакокинетических параметров проводили с использованием ПО PKSolver, использовали безкомпартментную модель. Оценку биоэквивалентности проводили с использованием ПО Statistica.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Оценка фармакокинетики доксициклина

Графическое изображение усредненных фармакокинетических профилей представлено на рисунке 1.

После перорального введения обоих лекарственных препаратов собакам доксициклин сравнительно быстро всасывается в системный кровоток: доксициклин выявлен в плазме уже через 15 мин после введения, время достижения максимальной концентрации (Tmax) доксициклина в плазме крови собак в среднем составило 3.0 ч для исследуемого препарата «Докситрон жевательный таблетки» и 3.0 ч для референтного препарата «Ронаксан». Максимальная плазменная концентрация для исследуемого препарата «Докситрон» (CmaxT) составила 4007,4±964,4 нг/мл и для референтного препарата «Ронаксан» (CmaxR) – 3794,9±1121,5 нг/мл. Среднее значение периода полувыведения (t1/2) доксициклина из плазмы крови составило 9,2±0,9 ч для исследуемого препарата («Докситрон жевательные таблетки») и 9,2±2,4 ч для референтного препарата («Ронаксан»). В таблицах 3 и 4 приведены значения фармакокинетических параметров для референтного и исследуемого препаратов.

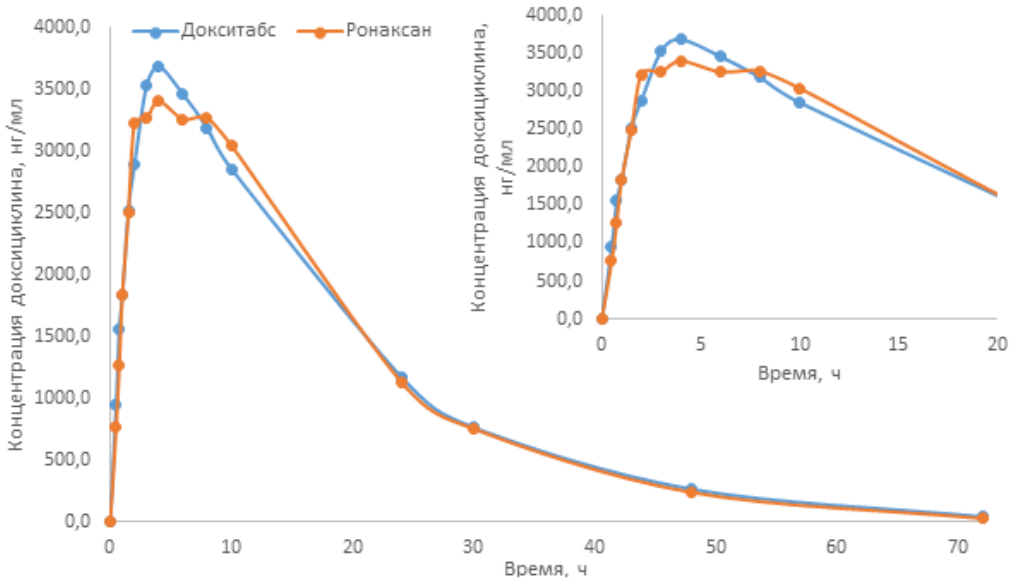


Рисунок 1 – Фармакокинетические профили доксициклина после введения «Докситрон жевательные таблетки» или «Ронаксан», по средним значениям (n=8) (оранжевый график – референтный препарат «Ронаксан», синий график – исследуемый препарат «Докситрон жевательные таблетки»).

Минимальные ингибирующие концентрации (MIC) доксициклина против распространенных возбудителей инфекций собак находятся в диапазоне 0,008-1 мкг /мл (8-1000 нг/мл): в том числе *Ehrlichia spp* – 30 нг/мл, *Leptospira interrogans* – 100-400 нг/мл, *Chlamydia spp* – 8-31 нг/мл, *Brucella spp* – 60-1000 нг/мл, *Rickettsia spp*. – 60-125 нг/мл: *Staphylococcus aureus* – 120-250 нг/мл, *Streptococcus pneumonia* – 30-60 нг/мл, *Mycoplasma spp*. – 60-250 нг/мл, *Pasteurella spp*. – 120-250 нг/мл, S. *Pseudintermedius* – 63-125 нг/мл, *B. bronchiseptica* – 120-500 нг/мл [6; 8-10; 13-17].

Из полученных результатов видно, что даже при однократном введении в плазме крови достигаются уровни, превышающие вышеперечисленные MIC. Учитывая, что предусмотрено курсовое введение препаратов, это обеспечит их эффективность против указанных выше возбудителей инфекций собак.

Оценка биоэквивалентности

В перекрестном двухпериодном опыте было задействовано 2 группы по 4 животных. Продолжительность каждого периода составила 72 ч.

Период полувыведения доксициклина составил у разных животных от 7,2 до 14,6 ч. Таким образом, продолжительность каждого периода составляла не менее 4 периодов полувыведения действующего вещества и была достаточной. Значение отношения площади под кривой «плазменная концентрация–время» с момента приема до последней определяемой концентрации во временной точке t к площади под кривой «плазменная концентрация–время» с момента приема лекарственного препарата до бесконечности ($AUC_{0-t}/AUC_{0-\infty}$) для доксициклина составило не менее 98% для обоих препаратов для всех животных, что свидетельствует о достаточной продолжительности отбора проб.

Время отмывки между периодами составило 72 ч, соответственно время между введениями препаратов в периоде I и периоде II составило 144 ч, что является достаточным, так как это превышает 6 периодов полувыведения каждого дей-

ствующего вещества.

T_{max} доксициклина составила от 1 до 8 ч, при этом выбор моментов времени отбора проб обеспечил получение не менее 3-х точек для фазы первоначального возрастания концентрации и не менее 5 точек для фазы ее снижения во всех случаях.

Нижний предел количественного определения (НПКО) аналитической методики составлял 5 нг/мл и соответствовал критерию «не более 5 % от C_{max}», поскольку C_{max} доксициклина составила не менее 2086 нг/мл.

С учетом указанного выше, дизайн исследования отвечал требованиям нормативных документов [2].

Полученные при фармакокинетическом анализе значения C_{max} и AUC_{0-t} были подвергнуты логарифмическому преобразованию. Оценка нормальности распределения значений с использованием критерия Шапиро-Уилка показала, что значения C_{max} и AUC_{0-t} характеризуются логнормальным распределением ($p>0,05$), гистограммы приведены на рисунках 2-3.

Таблица 3 – Индивидуальные и усредненные значения фармакокинетических параметров[a] доксициклина у собак при введении Исследуемого препарата («Докситрон жевательные таблетки»)

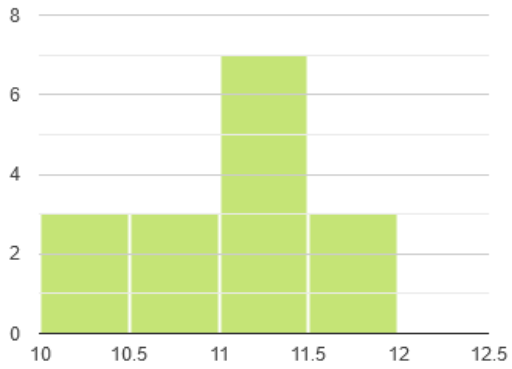
№ живого	Период	Последсть	C_{max} (нг/мл)	AUC_{0-t} (нг/мл*ч)	$AUC_{0-\infty}$ (нг/мл*ч)	$AUC_{0-t}/AUC_{0-\infty}$	T_{max} (ч)	k_{el}	$t1/2_{\beta}$ (ч)
1	I	И-Р	3982,0	43055	43189	1,00	6	0,09	8,0
2	I	И-Р	2692,9	34511	34630	1,00	3	0,09	7,8
3	I	И-Р	4637,6	104805	105837	0,99	3	0,07	9,4
4	I	И-Р	4862,5	86894	87810	0,99	4	0,07	10,0
5	II	Р-И	2337,9	33114	33251	1,00	1,5	0,07	9,8
6	II	Р-И	4608,7	124872	126205	0,99	6	0,07	10,2
7	II	Р-И	4668,0	83085	83488	1,00	3	0,08	8,8
8	II	Р-И	4269,4	69171	69606	0,99	4	0,07	9,8
Среднее			4007,4	72439	73002	0,99	3	0,08	9,2
СКО			964,4	33760	34207	0,00	1,6	0,01	0,9
ОСКО			24	47	47	0	41	10	10

[a] *k_e – константа скорости элиминации, T_{max} – время достижения максимальной концентрации в плазме, C_{max} – максимальная концентрация в плазме, AUC_{0-t} – площадь под кривой «плазменная концентрация–время» с момента приема до последней определяемой концентрации во временной точке t, $AUC_{0-\infty}$ - площадь под кривой «плазменная концентрация–время» с момента приема лекарственного препарата до бесконечности, $AUC_{0-t}/AUC_{0-\infty}$ - соотношение значений AUC_{0-t} и $AUC_{0-\infty}$, $t1/2_{\beta}$ - период полувыведения.*

Таблица 4 – Индивидуальные и усредненные значения фармакокинетических параметров[a] доксициклина у собак при введении Референтного препарата («Ронаксан»)

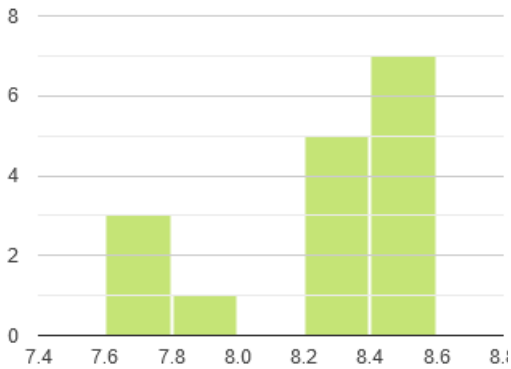
№ живого	Период	Последность	C_{max} (нг/мл)	AUC_{0-t} (нг/мл*ч)	$AUC_{0-\infty}$ (нг/мл*ч)	$AUC_{0-t}/AUC_{0-\infty}$	T_{max} (ч)	k_{el}	$t1/2_{\beta}$ (ч)
1	II	И-Р	3684,4	58398	58519	1,00	6	0,09	7,8
2	II	И-Р	2086,2	39967	40172	0,99	1	0,08	8,6
3	II	И-Р	4800,3	83023	83245	1,00	2	0,09	8,0
4	II	И-Р	4701,0	84416	84612	1,00	2	0,10	7,2
5	I	Р-И	2127,3	32790	32913	1,00	4	0,07	9,5
6	I	Р-И	3833,9	120474	122471	0,98	3	0,05	14,6
7	I	Р-И	4761,1	77444	77851	0,99	8	0,07	10,1
8	I	Р-И	4364,6	74741	74949	1,00	3	0,09	8,0
Среднее			3794,9	71407	71842	0,99	3	0,08	9,2
СКО			1121,5	27796	28279	0,00	2,3	0,02	2,4
ОСКО			30	39	39	0	64	20	26

[a] *k_e – константа скорости элиминации, T_{max} – время достижения максимальной концентрации в плазме, C_{max} – максимальная концентрация в плазме, AUC_{0-t} – площадь под кривой «плазменная концентрация–время» с момента приема до последней определяемой концентрации во временной точке t, $AUC_{0-\infty}$ - площадь под кривой «плазменная концентрация–время» с момента приема лекарственного препарата до бесконечности, $AUC_{0-t}/AUC_{0-\infty}$ - соотношение значений AUC_{0-t} и $AUC_{0-\infty}$, $t1/2_{\beta}$ - период полувыведения.*



pSW=0,0987

Рисунок 2 – Распределение логарифмически преобразованных значений AUC0 -t доксициклина



pSW=0,0726

Рисунок 3 – Распределение логарифмически преобразованных значений Cmax доксициклина

Таблица 5 – Результаты дисперсионного анализа ANOVA (доксициклин)

	C_{maxT}/C_{maxR}	AUC_{0-tT}/AUC_{0-tR}
Влияние последовательности	P=0.671 последовательность не оказывает влияния	P=0.110 последовательность не оказывает влияния
Влияние периода	P=0.773 период не оказывает влияния	P=0.651 период не оказывает влияния
Среднеквадратическая ошибка (MSE)	0.006	0.014
90% доверительный интервал соотношения T/R, логарифмически преобразованный	[-0.006; 0,1482]	[-0.135; 0.098]
90% доверительный интервал соотношения T/R, арифметический, в %	**[99.4; 116.0]**	**[87.3; 110.3]**

Далее результаты были подвергнуты дисперсионному анализу ANOVA, с оценкой влияния периода и последовательности, расчетом среднеквадратической ошибки и расчетом 90% доверительного интервала для отношения максимальных концентраций исследуемого и референтного препаратов (C_{maxT}/C_{maxR}) и отношениыя площадей под фармакокинетическими кривыми исследуемого и референтного препаратов (AUC_{0-tT}/AUC_{0-tR}), результаты представлены в таблице 5.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что 90% доверительные интервалы соотношений C_{maxT}/C_{maxR} и AUC_{0-tT}/AUC_{0-tR} доксициклина находятся в пределах диапазона 80-125 %, и, следовательно, исследуемый и референтный препарат являются биоэквивалентными.

ВЫВОДЫ / CONCLUSIONS

Время достижения максимальной плазменной концентрации (T_{max}) в среднем составило 3.0 ч для исследуемого препарата «Докситрон жевательные таблетки» и 3.0 ч для референтного препарата «Ронаксан». Максимальная плазменная концентрация (C_{max}) составила 4007,4±964,4 нг/мл для исследуемого препарата «Докситрон жевательные таблетки» и 3794,9±1121,5 нг/мл для референтного препарата «Ронаксан». 90% доверительные интервалы соотношений C_{maxT}/C_{maxR} и AUC_{0-tT}/AUC_{0-tR} доксициклина находятся в пределах диапазона 80-125 %. Препараты «Докситрон жевательные таблетки» и «Ронаксан» являются биоэквивалентными.

BIOEQUIVALENCE STUDY OF DOXITRON CHEWABLE TABLETS AND RONAXAN FOR DOGS

Komarov A.A.[1] **–** Doctor of Biological Sciences, Professor of the RAS**; Engashev S.V.**[2] – Doctor in Veterinary Science, Academician of the RAS, Professor; **Selimov R.N.**[3] – Candidate in Veterinary Science, Head of the Laboratory for the Study of Pharmacokinetics and Metabolism of Drugs**; Mironenko A.V.**[4] – Candidate in Veterinary Science, Master of the Institute of Biochemical Technologies and Nanotechnologies; **Goncharova E.N.**[3] – Candidate in Chemistry Science, Senior Researcher, Laboratory for the Study of Pharmacokinetics and Metabolism of Drugs**; Gabidullina D.E.**[3] – Senior Researcher, Laboratory for the Study of Pharmacokinetics and Metabolism of Drugs.

[1] Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Russian Biotechnological University (ROSBIOTECH)»

[2] Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA named after K.I. Scrjabin

[3] MIP Academy of Innovations LLC

[4] Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba

*komarov.a@vetmag.ru

ABSTRACT

A study was carried out to investigate the bioequivalence of the drugs "Doxitron chewable tablets" and "Ronaxan" when administered to dogs. Two groups of animals were formed with 4 dogs in each group. A cross-sectional study design was used for the experiment. Biological material (blood) was sampled before drug administration, and 15, 30, 45 min, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 8, 10, 24, 30, 48, 72 h after drug administration. In the course of the study the following parameters were controlled: concentrations of the active substance of the preparations in the blood plasma of dogs. The article describes in detail the scheme of the experiment, reagents and standard samples, the process of sample preparation of blood plasma samples and HPLC-MS/MS analysis. The bioequivalence of the preparations "Doxitron chewable tablets" and "Ronaxan" is evaluated. The time to reach the maximum plasma concentration (T_{max}) averaged 3.0 h for the investigational drug "Doxitron chewable tablets" and 3.0 h for the reference drug "Ronaxan". The maximum plasma concentration (C_{max}) was 4007.4±964.4 ng/ml for the study drug Doxitron Chewable Tablets and 3794.9±1121.5 ng/ml for the reference drug Ronaxan. The 90% confidence intervals of C_{maxT}/C_{maxR} and AUC_{0-tT}/AUC_{0-tR} ratios of doxycycline were within the range of 80-125%. The preparations "Doxitron chewable tablets" and "Ronaxan" are bioequivalent.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Мирошникова М. С. Тетрациклиновые антибиотики в животноводстве и ветеринарии //Шаг в науку. – 2021. – №. 2. – С. 10-20.

2.Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 21.01.2022 N 1 «О Правилах регулирования обращения ветеринарных лекарственных средств на таможенной территории Евразийского экономического союза».

3.Ришко О. Тетрациклины: взгляд из прошлого в будущее //Животноводство России. – 2019. – №. 1. – С. 36-37.

4. Енгашев С.В., Енгашева Е.С., Мироненко А.В. Способ лечения респираторных и желудочно-кишечных заболеваний сельскохозяйственных животных. Патент на изобретение 2796827 C1, 29.05.2023.

5.Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine, Fifth Edition. Edited by Steeve Giguère, John F. Prescott and Patricia M. Dowling. 2013 John Wiley & Sons, Inc.

6.Davoust B, Keundjian A, Rous V, et al. Validation of chemoprevention of canine monocytic ehrlichiosis with doxycycline. Vet Microbiol 2005; 107: 279–283.

7.Ganiere JP, Medaille C, Mangion C. Antimicrobial drug susceptibility of Staphylococcus intermedius clinical isolates from canine pyoderma. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health 2005; 52: 25–31.

8.Holmes N, Charles P. Safety and efficacy review of doxycycline. Clin Med Ther 2009; 1: 471–482.

9.Maaland MG, Papich MG, Turnidge J, Guardabassi L. Pharmacodynamics of doxycycline and tetracycline against Staphylococcus pseudintermedius: proposal of canine-specific breakpoints for doxycycline. J Clin Microbiol. 2013 Nov;51(11):3547-54.

10.Murray CK, Hospenthal DR. Determination of susceptibilities of 26 Leptospira sp. serovars to 24 antimicrobial agents by a broth microdilution technique. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48: 4002–4005.

11.Papich Handbook of Veterinary Medicine, Fifth Edition. Mark G.Papich. 2021 Elsevier, Inc.

12.Veterinary Pharmacology and Therapeutics, Tenth Edition. Edited by Jim E. Riviere and Mark G. Papich. 2018 JohnWiley & Sons.

13.Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski N, et al. Brucellosis. N Engl J Med 2005; 352: 2325–2336.

14.Plumb, D.C. (2011). Plumb's veterinary drug handbook. Stockholm, Wis: Pharma-Vet.

15.Приказ Министерств сельского хозяйства РФ от 6 марта 2018 г. N 101 «Об утверждении правил проведения докли-

нического исследования лекарственного средства для ветеринарного применения, клинического исследования лекарственного препарата для ветеринарного применения, исследования биоэквивалентности лекарственного препарата для ветеринарного применения».
16.Pudjiatmoko, Fukushi H, Ochiai Y, et al. In vitro susceptibility of Chlamydia pecorum to macrolides, tetracyclines, quinolones and beta-lactam. Microbiol Immunol 1998; 42: 61–63.
17.Ross JE, Jones RN. MIC quality control guidelines for doxycycline when testing grampositive control strains by the reference methods. Diagn Microbiol Infect Dis 2004; 50: 295–297.
18.Speakman AJ, Dawson S, Corkill JE, et al. Antibiotic susceptibility of canine Bordetella bronchiseptica isolates. Vet Microbiol 2000; 71: 193–200.
19.Summary of Product Characteristics - Doxycare Flavour 200 mg Tablets for Cats and Dogs.
20.EMA/CVMP/VICH/463202/2009 VICH topic GL49: Studies to evaluate the metabolism and residues kinetics of veterinary drugs in human food-producing animals: validation of analytical methods used in residue depletion studies.
21.EMEA. Guideline in bioanalytical method validation. European Medicines Agency. Committee for medicinal products for human use: London (2011).

REFERENCES

1.Miroshnikova M. S. Tetracycline antibiotics in animal husbandry and veterinary medicine //Shag v nauki. - 2021. - №. 2. - C. 10-20.
2.Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission of 21.01.2022 N 1 "On the Rules for regulating the circulation of veterinary medicines on the customs territory of the Eurasian Economic Union".
3.Rishko O. Tetracyclines: a look from the past to the future // Livestock of Russia. - 2019. - №. 1. - C. 36-37.
4. Engashev S.V., Engasheva E.S., Mironenko A.V. Method for treating respiratory and gastrointestinal diseases of farm animals. Patent for invention 2796827 C1, 05/29/2023.
5.Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine, Fifth Edition. Edited by Steeve Giguère, John F. Prescott and Patricia M. Dowling. 2013 John Wiley & Sons, Inc.
6.Davoust B, Keundjian A, Rous V, et al. Validation of chemoprevention of canine monocytic ehrlichiosis with doxycycline. Vet Microbiol 2005; 107: 279–283.
7.Ganiere JP, Medaille C, Mangion C. Antimicrobial drug susceptibility of Staphylococcus intermedius clinical isolates from canine pyoderma. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health 2005; 52: 25–31.
8.Holmes N, Charles P. Safety and efficacy review of doxycycline. Clin Med Ther 2009; 1: 471–482.
9.Maaland MG, Papich MG, Turnidge J, Guardabassi L. Pharmacodynamics of doxycycline and tetracycline against Staphylococcus pseudintermedius: proposal of canine-specific breakpoints for doxycycline. J Clin Microbiol. 2013 Nov;51(11):3547-54.
10.Murray CK, Hospenthal DR. Determination of susceptibilities of 26 Leptospira sp. serovars to 24 antimicrobial agents by a broth microdilution technique. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48: 4002–4005.
11.Papich Handbook of Veterinary Medicine, Fifth Edition. Mark G.Papich. 2021 Elsevier, Inc.
12.Veterinary Pharmacology and Therapeutics, Tenth Edition. Edited by Jim E. Riviere and Mark G. Papich. 2018 JohnWiley & Sons.
13.Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski N, et al. Brucellosis. N Engl J Med 2005; 352: 2325–2336.
14.Plumb, D.C. (2011). Plumb's veterinary drug handbook. Stockholm, Wis: Pharma-Vet.
15.Order of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation dated March 6, 2018 N 101 “On approval of the rules for conducting preclinical studies of a medicinal product for veterinary use, clinical trials of a medicinal product for veterinary use, bioequivalence studies of a medicinal product for veterinary use”.
16.Pudjiatmoko, Fukushi H, Ochiai Y, et al.

In vitro susceptibility of Chlamydia pecorum to macrolides, tetracyclines, quinolones and beta-lactam. Microbiol Immunol 1998; 42: 61–63.
17.Ross JE, Jones RN. MIC quality control guidelines for doxycycline when testing grampositive control strains by the reference methods. Diagn Microbiol Infect Dis 2004; 50: 295–297.
18.Speakman AJ, Dawson S, Corkill JE, et al. Antibiotic susceptibility of canine Bordetella bronchiseptica isolates. Vet Microbiol 2000; 71: 193–200.
19.Summary of Product Characteristics - Doxycare Flavour 200 mg Tablets for Cats and Dogs.
20.EMA/CVMP/VICH/463202/2009 VICH topic GL49: Studies to evaluate the metabolism and residues kinetics of veterinary drugs in human food-producing animals: validation of analytical methods used in residue depletion studies.
21.EMEA. Guideline in bioanalytical method validation. European Medicines Agency. Committee for medicinal products for human use: London (2011).

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

T – исследуемый препарат «Докситрон жевательные таблетки»

R – референтный препарат «Ронаксан»

ТФЭ – твердофазная экстракция

MRM – метод «регистрации выбранных реакций»

T_{max} – время достижения максимальной плазменной концентрации

C_{maxT} – максимальная плазменная концентрация доксициклина после применения исследуемого препарата «Докситрон»

C_{maxR} – максимальная плазменная концентрация доксициклина после применения референтного препарата «Ронаксан»

$t1/2_{\beta}$ – период полувыведения действующего вещества

k_e – константа скорости элиминации

C_{max} – максимальная концентрация в плазме

AUC_{0-t} – площадь под кривой «плазменная концентрация–время» с момента приема до последней определяемой концентрации во временной точке t

$AUC_{0-\infty}$ - площадь под кривой «плазменная концентрация–время» с момента приема лекарственного препарата до бесконечности

$AUC_{0-t}/AUC_{0-\infty}$ - соотношение значений AUC_{0-t} и $AUC_{0-\infty}$

MIC – минимальные ингибирующие концентрации

НПКО – нижний предел количественного определения

C_{maxT}/C_{maxR} – отношение значений C_{maxT} и C_{maxR}

AUC_{0-tT} - площадь под кривой «плазменная концентрация–время» с момента приема до последней определяемой концентрации во временной точке t для исследуемого препарата

$AUC_{0-\infty R}$ - площадь под кривой «плазменная концентрация–время» с момента приема лекарственного препарата до бесконечности для референтного препарта

AUC_{0-tT}/AUC_{0-tR} – - соотношение значений AUC_{0-tT} и $AUC_{0-\infty R}$

УДК: 616.36-07:619
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.154

ВЛИЯНИЕ СОВРЕМЕННЫХ ГЕПАТОТОКСИКАНТОВ НА ЭЛИМИНАЦИЮ КОФЕИНА

Попова О.С.* – канд. ветеринар. наук, доц. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-0650-0837); **Понамарев В.С.** – канд. ветеринар. наук, ст. преп. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-6852-3110); **Кострова А.В.** – асп. каф. фармакологии и токсикологии; **Агафонова Л.А.** – соиск. каф. фармакологии и токсикологии.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*alef_z@mail.ru

Ключевые слова: *гепатобилиарная система, клиренс-тест, кофеин, крысы, диагностика, фармакокинетика.*

Keywords: *hepatobiliary system, clearance test, caffeine, rats, diagnostics, pharmacokinetics.*

Благодарности: *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00011, https://rscf.ru/project/23-26-00011*

Поступила: 16.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Гепатотоксиканты представляют собой разнообразные химические вещества, способные оказывать органоспецифическое повреждающее действие, что может быть результатом их прямого воздействия как на гепатоциты, так и на другие структурные единицы печени. Цель настоящего исследования- оценка влияния современных гепатотоксикантов на элиминацию кофеина. Исследования проводились в виварии кафедры фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ. Для индуцирования гепатотоксичных состояний использовались промышленные вещества разных химических групп: фталевый ангидрид, этилендиамин и хлороформ. Все вышеперечисленные токсиканты задавались в дозировках для одномоментной (в течение суток) индукции гепатотоксичных состояний. Спустя сутки после завершения моделирования, у подопытных животных определялись уровни кофеина в сыворотке крови в полном соответствии с предыдущей серией опыта, с использованием дозировки 100мг/кг, так как при данном режиме дозирования нами были выявлены наиболее стабильные фармакокинетические профили кофеина. Математико-статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы STATISTICA 6.1. Рассчитывали среднюю арифметическую (M) и ее среднюю ошибку (m), расчет достоверности разницы (p) по критерию Стьюдента не проводился в связи с поисковым характером исследования и отсутствием групп сравнения. На основании проведенных исследований мы можем сделать вывод, что каждый гепатотоксикант имеет индивидуальные характерные особенности, что позволяет рекомендовать кофеиновую пробу для разных видов гепатотоксичности, в т.ч. невыраженной. То есть таким способом можно диагностировать гепатотоксичные состояния даже в латентной форме, что может быть использовано, как метод оценки токсичности препарата на стадии доклинических разработок.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Гепатотоксиканты представляют собой разнообразные химические вещества, способные оказывать органоспецифическое повреждающее действие, что может быть результатом их прямого воздействия как на гепатоциты, так и на другие структурные единицы печени[1].

Одним из механизмов действия гепатотоксикантов является образование реактивных метаболических интермедиатов в процессе биотрансформации в печени. Нарушение нормальной элиминации данных веществ может приводить к накоплению токсических метаболитов и развитию гепатотоксичных эффектов[2].

Еще одним механизмом воздействия гепатотоксикантов является окислительный стресс, возникающий при усилении образования свободных радикалов и снижении активности антиоксидантной системы организма. Повышенное образование свободных радикалов в печени может вызывать повреждения клеточных структур, включая липидные мембраны, что, в свою очередь, негативно сказывается на функциональности данного органа[3].

В целом, механизмы действия гепатотоксикантов являются сложным и многогранным процессом, включающим взаимодействие различных факторов, метаболических путей и иммунной системы. Изучение этих механизмов имеет важное значение для разработки способов предотвращения и лечения гепатопатий различного генеза, а также позволяет оценить потенциальную токсичность новых химических веществ[4].

Важной научной проблемой является диагностика токсического действия гепатотоксикантов, так как при их даже незначительном поступлении, токсичность может проявляться латентно, в то время как в научно-исследовательской литературе описаны кумулятивные эффекты подобных соединений [5]. Одним из способов такой диагностики может является контроль за изменением клиренса специфических соединений, являющихся маркерами состояния в т.ч. детоксикационной функции печени. Таким маркером может являться элиминация кофеина, которая является перспективным предиктором [6].

Цель настоящего исследования- оценка влияния современных гепатотоксикантов на элиминацию кофеина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводились в виварии кафедры фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ. Количество животных, их возрастные характеристики, живая масса, условия кормления и содержания были эквивалентны с предыдущей серией эксперимента [7].

Исследования были проведены в соответствии принципами Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей, правилами надлежащей лабораторной и клинической (GLP и GCP) практики, а также требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях [8,9]. Дизайн исследования одобрен комиссией по биоэтике ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

Для индуцирования гепатотоксичных состояний использовались промышленные вещества разных химических групп:

-Ангидриды карбоновых кислот - фталевый ангидрид;

-Алифатические амиды- этилендиамин;

-Органические токсиканты – хлороформ.

Все вышеперечисленные токсиканты задавались в дозировках для одномоментной (в течение суток) индукции гепатотоксичных состояний [10,11,12].

Спустя сутки после завершения моделирования, у подопытных животных определялись уровни кофеина в сыворотке крови в полном соответствии с предыдущей серией опыта [7], с использованием дозировки 100мг/кг, так как при данном режиме дозирования нами были выявлены наиболее стабильные фармакокинетические профили кофеина.

Математико-статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы STATISTICA 6.1. Рассчитывали среднюю арифметическую (M) и ее среднюю ошибку (m), расчет достоверности разницы (p) по критерию Стьюдента не проводился в связи с поисковым характером исследования и отсутствием групп сравнения.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В ходе эксперимента не было выявлено патологических реакций со стороны сердечно-сосудистой системы в результате введения препарата. Уровень кофеина определяли в плазме крови на спектрофотометре УФ 1100, согласно методике [7] представлены в таблице 1.

После проведения анализа полученных данных, мы пришли к выводу, что не существует какой-либо связи между процессом биотрансформации кофеина у самцов и самок. Более того, мы обнаружили, что уровень кофеина в сыворотке крови подопытных животных значительно выше, чем у животных без какой-либо патологии. Одновременно, временной интервал полного удаления кофеина не охватывался в исследуемых временных рамках (рис.1).

Фармакокинетический профиль кофеина при использовании фталевого альдегида можно охарактеризовать следующим образом: длительно плато (до 4 часов), затем- планомерное снижение уровня, что характерно, учитывая количественный показатель уровня, незначительным негативным влиянием на функциональное состояние печени.

При использовании этилендиамина кофеиновый профиль также характеризовался длительным плато (до 4 часов), сменяющимся дальнейшим резким снижением, что характерно для умеренного негативного влияния на функциональное состояние печени. Применение хлороформа характеризовалось чередующимися снижениями и подъёмами уровня кофеина в течение 8 часов, а затем- незначительным снижением, что характерно для выраженного гепатотоксичного действия.

Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод, что гепатотоксичность зависит от химической структуры потенциального гепатотоксиканта. И анализ безопасности и эффективности лекарственных препаратов помогает более точно оценивать потенциальный риск для печени при использовании различных химических веществ в ветеринарии.

Таблица 1 – Уровень кофеина в плазме крови (в мкг) после введение экзогенного кофеина у подопытных крыс после применения гепатотоксикантов разных групп(n=6)

Используемый гепатотоксикант	**Фталевый ангидрид**		**Этилендиамин**		**Хлороформ**	
Т после введения / пол животных	♂	♀	♂	♀	♂	♀
30 мин	81,6±7,5	79,9±5,7	72,4±5,2	73,7±4,3	67,2±4,1	66,5±5,2
1 час	82,7±6,9	81,2±6,1	72,2±4,9	73,4±5,1	71,6±3,9	71,1±4,6
2 часа	81,4±7,1	80,6±5,7	69,3±4,7	70,5±4,8	79,3±3,7	81,3±4,2
4 часа	80,3±6,2	78,3±5,3	67,1±5,3	70,2±5,7	80,4±4,2	80,2±4,5
8 часов	71,4±5,8	71,5±6,4	42,8±4,1	45,2±6,2	79,5±3,8	81,1±5,7
12 часов	58,6±6,1	59,7±3,5	34,7±3,9	37,3±5,3	62,1±4,7	60,3±5,1

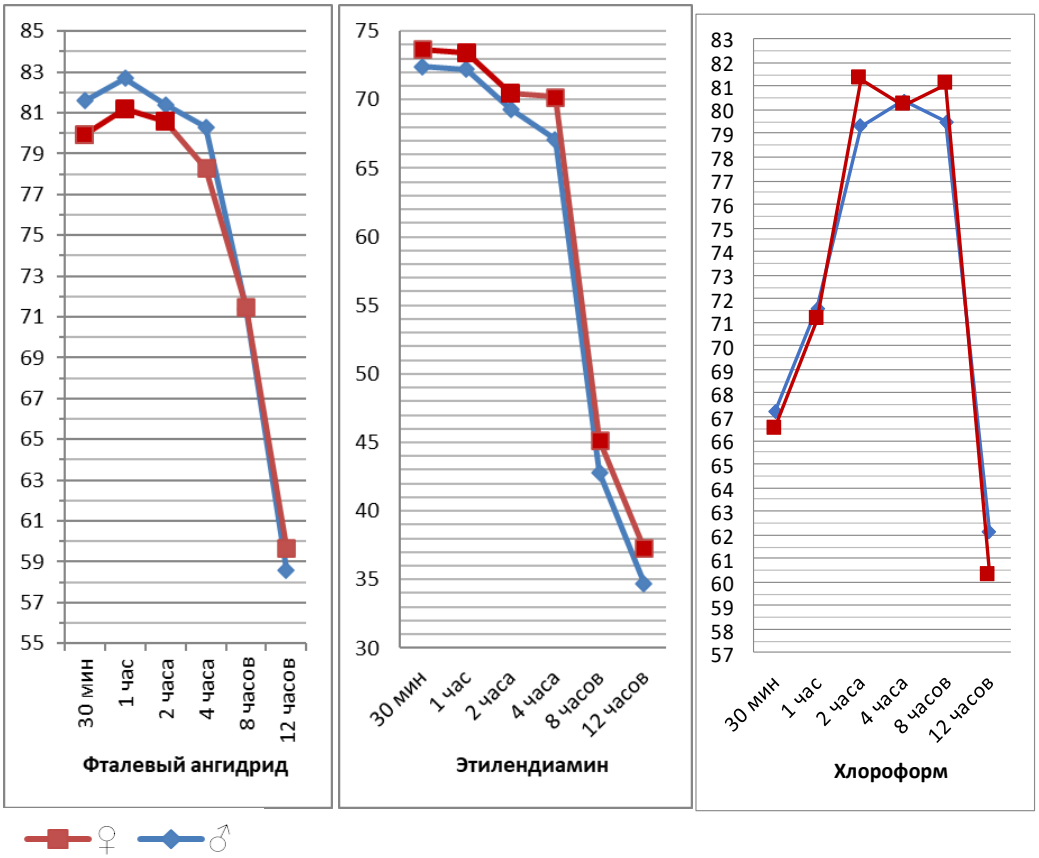


Рисунок 1 – Уровень кофеина в плазме крови (в мкг) у самцов (♂) и самок (♀) подопытных крыс после введения экзогенного кофеина у подопытных крыс после применения гепатотоксикантов разных групп(n=6)

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Важнейшими биохимическими изменениями в гепатоцитах при химическом поражении печени являются накопление нейтральных липидов, нарушение активности мембран эндоплазматического ретикулума с резким снижением антитоксической функции органа, биоэнергетических процессов в митохондриях, угнетение белкового синтеза, дисбаланс ионного состава клетки вследствие повреждения мембранных транспортных систем, изменения активности внутриклеточных мессенжеров.

На основании проведенных исследований мы можем сделать вывод, что каждый гепатотоксикант имеет индивидуальные характерные особенности, что позволяет рекомендовать кофеиновую пробу для разных видов гепатотоксичности, в т.ч. невыраженной. То есть таким способом можно диагностировать гепатотоксичные состояния даже в латентной форме, что может быть использовано, как метод оценки токсичности препарата на стадии доклинических разработок.

INFLUENCE OF MODERN HEPATOTOXICANTS ON CAFFEINE ELIMINATION

Popova O.S. * – Ph.D. of Veterinary Science, Associate Professor Pharmacology and Toxicology (ORCID 0000-0002-0650-0837), **Ponamarev V.S.** – Ph.D. (ORCID

0000-0002-6852-3110) – Senior Lecturer, Ph.D. of Veterinary Science, **Kostrova A.V.** – graduate student, **Agafonova L.A.** – student.

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*alef_z@mail.ru

Acknowledgments: *The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 23-26-00011, https://rscf.ru/project/23-26-00011.*

ABSTRACT

Hepatotoxicants are a variety of chemical substances that can have organ-specific damaging effects, which may be the result of their direct effects on both hepatocytes and other structural units of the liver. The purpose of this study is to evaluate the effect of modern hepatotoxicants on caffeine elimination. The studies were carried out in the vivarium of the Department of Pharmacology and Toxicology of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education of St. Petersburg State University of Medicine. Industrial substances of different chemical groups have been used to induce hepatotoxic conditions: phthalic anhydride, ethylenediamine and chloroform. All of the above toxicants were given in dosages for the immediate (within 24 hours) induction of hepatotoxic conditions. One day after the completion of the simulation, the levels of caffeine in the blood serum of the experimental animals were determined in full accordance with the previous series of experiments, using a dosage of 100 mg/kg, since with this dosage regimen we identified the most stable pharmacokinetic profiles of caffeine. Mathematical and statistical processing of the obtained data was carried out using the STATISTICA 6.1 program. The arithmetic mean (M) and its mean error (m) were calculated; the significance of the difference (p) was not calculated using the Student's test due to the exploratory nature of the study and the lack of comparison groups. Based on the conducted research, we can conclude that each hepatotoxicant has individual characteristic characteristics, which allows us to recommend a caffeine test for different types of hepatotoxicity, incl. unexpressed. That is, in this way it is possible to diagnose hepatotoxic conditions even in a latent form, which can be used as a method for assessing the toxicity of a drug at the stage of preclinical development.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Mechanism-Driven Read-Across of Chemical Hepatotoxicants Based on Chemical Structures and Biological Data / L. Zhao, D. P. Russo, W. Wang [et al.] // Toxicological Sciences. – 2020. – Vol. 174, No. 2. – P. 178 -188. – DOI 10.1093/toxsci/kfaa005.

2.A systematic review on hepatoprotective activity of quercetin against various drugs and toxic agents: Evidence from preclinical studies / R. B. Pingili, S. R. Challa, A. K. Pawar [et al.] // Phytotherapy Research. – 2020. – Vol. 34, No. 1. – P. 5-32. – DOI 10.1002/ptr.6503.

3.Qinna, N. A. Chemical induction of hepatic apoptosis in rodents / N. A. Qinna, B. Y. Ghanim // Journal of Applied Toxicology. – 2019. – Vol. 39, No. 2. – P. 178-190. – DOI 10.1002/jat.3740.

4.Понамарев, В. С. Компендиум методологических подходов индуцирования гепатотоксичности у лабораторных животных / В. С. Понамарев, В. А. Барышев // Journal of Agriculture and Environment. – 2023. – № 1 (29). – DOI 10.23649/jae.2023.1.39.002.

5.Validation of precision-cut liver slices to study drug-induced cholestasis: a transcriptomics approach / S. Vatakuti, P. Olinga, J. L. A. Pennings, G. M. M. Groothuis // Archives of Toxicology. – 2017. – Vol. 91, No. 3. – P. 1401-1412. – DOI 10.1007/s00204-016-1778-8.

6.Validation of precision-cut liver slices to study drug-induced cholestasis: a transcriptomics approach / S. Vatakuti, P. Olinga, J. L. A. Pennings, G. M. M. Groothuis // Archives of Toxicology. – 2017. – Vol. 91, No. 3. – P. 1401-1412. – DOI 10.1007/s00204-016-1778-8.

7.Попова, О.С. Фармакокинетические параметры кофеина у лабораторных животных в контексте оценки функциональ-

ного состояния печени / О. С. Попова, В. С. Понамарев, А. В. Кострова, Л. А. Агафонова // Международный вестник ветеринарии. – 2023. – № 2. – С. 142-149. – DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.2.142.
8.Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.). Доступно по: https://rm.coe.int/168007 a6a8. Ссылка активна на 27 октября 2023 г.
9.Директива 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях. Доступно по: https://eurlex.europa. eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:007 9:en:PDF. Ссылка активна на 27 октября 2023 г.
10. Паспорт безопасности №7905: трихлорметáн / Хлороформ D1 with TMS (0,03 vol.%) 99,8 Atom%D: дата пересмотра 22.04.2022. В соответствии с ГОСТ 30333-2007. 17 с. Доступ: https://www.carlroth.com/medias/SDB-7905-RU-RU.pdfcontext=bWFzdGVyfHNlY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wzNDk2MzN8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNlY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oMmMvaGEzLzkwNzAxMzEyMTY0MTQucGRmfDhhODczZTgwNGIyNmZkYTJkOGIwZjk4YmI2MmY2NjFiZWE2NWQxYjQxMDM5MzkwMWU5Y2JlODFmM2I0NDRlYWI (дата посещения: 29.11.2023)
11.Паспорт безопасности №4218: Этилендиамин ≥99,5 %, для синтеза: дата пересмотра 04.01.2022. В соответствии с ГОСТ 30333-2007. 18 с. Доступ: https://www.carlroth.com/medias/SDB-4218-RU-RU.pdfcontext=bWFzdGVyfHNlY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wzNDc0NTB8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNlY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oN2QvaDc1LzkwNTcwNzg3Mzg5NzQucGRmfGFjN2Q0YjQ0Y2IxNDcyNmU5ZWJiNmZjYmE2MTJkODI0MGI5NzMwN2MxNmVkNjRiNjkzMWE5M2I1MmU3M2YyMmY (дата посещения: 29.11.2023)
12.Паспорт безопасности №3544: Фталевый ангидрид ≥98 %, для синтеза: дата пересмотра 01.08.2022. В соответствии с ГОСТ 30333-2007. 16 с. Доступ: https://www.carlroth.com/medias/SDB-3544-RU-RU.pdfcontext=bWFzdGVyfHNlY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wzMTQ5Njh8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNlY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oOTcvaDdiLzkwODI5NjcyMjg0NDYucGRmfGQxZDdiYTI4MTZiZDg0OWVmZjczODRhMjhjNzhjNzBhNGZmN2E3YzI3ODNhN2MxY2M1ZDI4Y2I0NjNmMTMzNmM (дата посещения: 29.11.2023)

REFERENCES

1. Mechanism-Driven Read-Across of Chemical Hepatotoxicants Based on Chemical Structures and Biological Data / L. Zhao, D. P. Russo, W. Wang [et al.] // Toxicological Sciences. – 2020. – Vol. 174, No. 2. – P. 178-188. – DOI 10.1093/toxsci/kfaa005.
2. A systematic review on hepatoprotective activity of quercetin against various drugs and toxic agents: Evidence from preclinical studies / R. B. Pingili, S. R. Challa, A. K. Pawar [et al.] // Phytotherapy Research. – 2020. – Vol. 34, No. 1. – P. 5-32. – DOI 10.1002/ptr.6503.
3. Qinna, N. A. Chemical induction of hepatic apoptosis in rodents / N. A. Qinna, B. Y. Ghanim // Journal of Applied Toxicology. – 2019. – Vol. 39, No. 2. – P. 178-190. – DOI 10.1002/jat.3740.
4. Ponamarev, V. S. Compendium of methodological approaches to inducing hepatotoxicity in laboratory animals / V. S. Ponamarev, V. A. Baryshev // Journal of Agriculture and Environment. – 2023. – No. 1(29). – DOI 10.23649/jae.2023.1.39.002.
5. Validation of precision-cut liver slices to study drug-induced cholestasis: a transcriptomics approach / S. Vatakuti, P. Olinga, J. L. A. Pennings, G. M. M. Groothuis // Archives of Toxicology. – 2017. – Vol. 91, No. 3. – P. 1401-1412. – DOI 10.1007/s00204-016-1778-8.
6. Validation of precision-cut liver slices to study drug-induced cholestasis: a transcriptomics approach / S. Vatakuti, P. Olinga, J. L. A. Pennings, G. M. M. Groothuis // Archives of Toxicology. – 2017. – Vol. 91, No. 3. – P. 1401-1412. – DOI 10.1007/s00204-016-1778-8.

7. Popova, O.S. Pharmacokinetic parameters of caffeine in laboratory animals in the context of assessing the functional state of the liver / O. S. Popova, V. S. Ponamarev, A. V. Kostrova, L. A. Agafonova // International Veterinary Bulletin. – 2023. – No. 2. – P. 142-149. – DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.2.142.
8. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental or Other Scientific Purposes (Strasbourg, 18 March 1986). Available from: https:// rm.coe.int/168007 a6a8. Link active as of October 27, 2023
9. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Available from: https://eurlex.europa. eu/LexUriServ/ LexUriServ.douri=OJ:L:2010:276:0033:007 9:en:PDF. Link active as of October 27, 2023
10. Safety data sheet No. 7905: trichloromethane / Chloroform D1 with TMS (0.03 vol.%) 99.8 Atom%D: revision date 04/22/2022. In accordance with GOST 30333-2007. 17 p. Access: https:// www.carlroth.com/medias/SDB-7905-RU-RU.pdfcontext=bWFzdGVyfHNlY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wzNDk2MzN8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNlY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oMmMvaGEzLzkwNzAxMzEyMTY0MTQucGRmfDhhODczZTgwNGIyNmZkYTJkOGIwZjk4YmI2MmY2NjFiZWE2NWQxYjQxMDM5MzkwMWU5Y2JlODFmM2I0NDRlYWI (date of visit: 11/29/2023)
11. Safety Data Sheet No. 4218: Ethylenediamine ≥99.5%, for synthesis: revision date 01/04/2022. In accordance with GOST 30333-2007. 18 p. Access: https:// www.carlroth.com/medias/SDB-4218-RU-RU.pdfcontext=bWFzdGVyfHNlY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wzNDc0NTB8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNlY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oN2QvaDc1LzkwNTcwNzg3Mzg5NzQucGRmfGFjN2Q0YjQ0Y2IxNDcyNmU5ZWJiNmZjYmE2MTJkODI0MGI5NzMwN2MxNmVkNjRiNjkzMWE5M2I1MmU3M2YyMmY (date of visit: 11/29/2023)
12. Safety data sheet No. 3544: Phthalic anhydride ≥98%, for synthesis: revision date 08/01/2022. In accordance with GOST 30333-2007. 16 p. Access: https:// www.carlroth.com/medias/SDB-3544-RU-RU.pdfcontext=bWFzdGVyfHNlY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wzMTQ5Njh8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNlY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oOTcvaDdiL zkwODI5NjcyMjg0NDYucGRmfGQxZDdiYTI4MTZiZDg0OWVmZjczODRhMjhjNzhjNzBhNGZmN2E3YzI3ODNhN2MxY2M1ZDI4Y2I0NjNmMTMzNmM (date of visit: 11/29/2023)

УДК: 619:611.018:612.017.12:636.028
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.161

АРХИТЕКТОНИКА ПАРЕНХИМАТОЗНЫХ ОРГАНОВ БЕЛЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ИНДУЦИРОВАННОЙ ИММУНОСУПРЕССИИ И ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА ИНТЕРФЕРОНА ЛЯМБДА

Востроилова Г.А. – д-р биол. наук, гл. науч. сотр. отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем (ORCID 0000-0002-2960-038X); **Хохлова Н.А.** – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем (ORCID 0000-0001-6861-2554); **Михайлов Е.В. –** канд. ветеринар. наук, вед. науч. сотр. отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем (ORCID 0000-0001-5457-1325); **Шабанов Д.И.** – науч. сотр. отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем (ORCID 0000-0002-1574-1317); **Корчагина А.А.** – ст. науч. сотр. отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем (ORCID 0000-0002-8561-417X); **Некрасов А.В.** – ст. лаборант отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем (ORCID 0000-0002-5957-1583); **Шабунин Б.В.** – ст. лаборант отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем (ORCID 0000-0002-2234-3851).

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»

*nina_xoxlova@mail.ru

Ключевые слова: *гистология, иммуносупрессия, циклофосфамид, рекомбинантный интерферон лямбда, доклинические исследования, лабораторные крысы.*

Keywords: *histology, immunosuppression, cyclophosphamide, recombinant interferon lambda, preclinical studies, laboratory rats.*

Поступила: 06.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Нарушение функционирования органов иммунной системы, как у человека, так и у животных, обусловлено влиянием на организм неблагоприятных факторов природного и антропогенного происхождения, а также инфекционными заболеваниями различной этиологии. В статье рассматриваются изменения в архитектонике паренхиматозных органов белых лабораторных крыс после воздействия на их организм препарата интерферона лямбда на фоне применения циклофосфамида (ЦФ). Установлено, что моделирование иммуносупрессии посредством применения ЦФ приводило к уменьшению количества лимфоидных клеток и появлению очагов скопления бластных клеток и мегакариоцитов, что указывает на поражение лимфоидной и кроветворной тканей. Кроме того, было выявлено иммуносупрессивное действие на селезенку, массовый коэффициент которой в группе с применением ЦФ был увеличен 3,53 раза, в группе с одновременным применением ЦФ и препарата интерферона лямбда

– в 2,75 раз относительно группы контроля. Также было отмечено уменьшение массового коэффициента тимуса на 47,6-50,0% в этих же группах, что можно расценивать как поражение органов иммунной системы. Негативное влияние ЦФ на селезенку подтверждалось гистологическим исследованием. Так при индуцировании иммуносупрессии убыль белой пульпы составила 73,0-77,5% относительно группы контрольных животных, что на 20,0% выше, чем у крыс, которым применяли интерферон лямбда, что может свидетельствовать о положительном иммунотропном влиянии исследуемого препарата. Кроме того, значимых морфологических изменений при воздействии на организм здоровых крыс интерферона лямбда в исследованных органах не выявлено, морфологическая картина сходна с таковой у интактных животных, что может свидетельствовать о безопасности его применения животным.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Нарушение функционирования органов иммунной системы, как у человека, так и у животных, обусловлено влиянием на организм неблагоприятных факторов природного и антропогенного происхождения, а также инфекционными заболеваниями различной этиологии [1]. При этом интенсификация современного животноводства приводит к возникновению ряда проблем в иммунных функциях, как у взрослых животных, так и у молодняка, что неизбежно отражается на продуктивности поголовья, получении и сохранности молодняка [2]. В связи с этим для ветеринарной фармакологии актуальным остается поиск, доклиническое исследование и клиническая апробация средств иммуноориентированной терапии, направленной на нормализацию функций звеньев иммунной системы. В частности, к таким средствам относятся препараты на основе рекомбинантных интерферонов, корригирующих иммунные дисфункции посредством нивелирования дефицита эндогенных регуляторных молекул и воспроизведения их эффектов [3].

В рамках доклинических фармакологических исследований используют искусственный вторичный иммунодефицит, моделируемый на лабораторных животных путем применения высоких доз циклофосфамида [2, 4]. Известно, что взаимодействие алкилирующих веществ, образующихся при метаболизме циклофосфамида в организме, с ДНК активно делящихся клеток приводит к повреждению их генетического аппарата, снижению количества иммунокомпетентных клеток в первичных и вторичных лимфоидных органах с одновременным нарушением их гистоструктуры [5]. В ранее проведенном нами исследовании в рамках экспериментальной модели циклофосфамидиндуцированной иммуносупрессии на лабораторных крысах были показаны иммунотропные эффекты препарата рекомбинантного видоспецифического (бычьего) интерферона лямбда [2]. В связи с этим целью данной работы стала оценка архитектоники паренхиматозных органов лабораторных крыс в условиях циклофосфамидиндуцированной иммуносупрессии и применения препарата интерферона лямбда.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Экспериментальная работа была проведена в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (под ред. Миронова А.Н., 2012) и требованиями действующих международных и российских законодательных актов на базе лаборатории доклинических исследований и моделирования биологических систем и вивария ФГБНУ «ВНИВИПФиТ». Дизайн эксперимента предварительно был одобрен Комиссией по биоэтике института. Для моделирования вторичной иммуносупрессии использовали циклофосфамид («Эндоксан® 200 мг», Baxter Oncology GmbH, Германия). В эксперименте использовали препарат видоспецифичного для крупного рогатого скота рекомбинантного интерферона лямбда с активностью не менее 10000 МЕ/мл, разработанный в ООО «НПЦ «ПроБиоТех», Республ-

лика Беларусь. В соответствии с дизайном эксперимента были сформированы 4 группы самок беспородных нелинейных белых лабораторных крыс массой тела 200,0±20,0 г по n=10 в каждой:

I группа – крысам внутрибрюшинно вводили «Эндоксан® 200 мг» в дозе 70мг/кг в объеме 0,5 мл трехкратно с интервалом 48 часов; II группа – крысам внутрибрюшинно вводили «Эндоксан® 200 мг» в дозе 70мг/кг в объеме 0,5 мл трехкратно с интервалом 48 часов; на 5-е сутки после последней инъекции иммунодепрессанта подопытным крысам внутримышечно вводили препарат интерферона лямбда в дозе 0,1 мл/кг в объеме 0,2 мл двукратно с интервалом 48 ч; III группа – клинически здоровые крысы, которым внутримышечно вводили препарат интерферона лямбда в дозе 0,1 мл/кг в объеме 0,2 мл двукратно с интервалом 48 ч; IV группа – группа контроля – крысам вводили изотонический раствор натрия хлорида внутрибрюшинно в объеме 0,5 мл трехкратно с интервалом 48 часов и внутримышечно объеме 0,2 мл двукратно с интервалом 48 ч. На 24 день подопытных крыс всех групп выводили из эксперимента передозировкой углекислого газа с дальнейшим проведением аутопсии и гистопатологическим изучением внутренних органов. После извлечения внутренних органов проводили их взвешивание на микроаналитических лабораторных весах (Acculab, USA) с последующим расчетом массовых коэффициентов (МК) для тимуса и селезёнки - интегрального показателя, представляющего собой процентное отношение массы органа к массе тела животного [6]. Образцы внутренних органов (селезенка, тимус, печень) фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, подвергали обезвоживанию в спиртах возрастающей концентрации, заливали в блоки парафиновой средой «Histomix» (ООО «Биовитрум», Россия). Далее на микротоме ротационного типа («Hospitex Diagnostics», Италия) готовили серийные срезы толщиной 3-5 мкм. Для изучения общей морфологической структуры органов гистосрезы были окрашены гематоксилин-эозином по общепринятой методике [7]. Для изучения гистологических препаратов применяли микроскоп марки «Hospitex diagnostics» (Италия). Микрофотографии были сделаны на встроенную камеру с разрешением 5 Мпикс. Обработка изображений и морфометрические измерения проводили с помощью программы «ImageJ» [8]. В качестве стандарта для морфометрических измерений использовалась линейка МОВ.

Для статистической обработки полученных данных использовали пакет программ Statistica v10 (STATsoft, USA) с расчетом средней арифметической (M) и ошибки средней (SE). Сравнение групп проводили с помощью U-теста Майна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

При оценке массовых коэффициентов иммунных органов были получены результаты, представленные в таблице 1.

В группе I отмечено увеличение МК селезёнки в 3,53 раза ($p<0,0005$) относительно группы контроля (IV), в группе II – в 2,75 раз ($p<0,0005$) относительно группы IV. Так же установлено, что в группе животных, которым применяли препарат интерферона лямбда на фоне иммуносупрессии, МК селезенки на 22,1% ($p<0,0005$) ниже, чем в группе I.

В группах крыс с циклофосфамидиндуцированной иммуносупрессией (I и II) отмечено уменьшение МК тимуса на 47,6 -50,0% ($p<0,0005$) относительно группы контроля (IV). В группе клинически здоровых крыс, которым применяли препарат интерферона лямбда (III), достоверных изменений МК селезёнки и тимуса относительно группы контроля не установлено. При гистологическом исследовании селезёнки крыс группы контроля (IV) выявлено полнокровие красной пульпы с большим количеством гранул гемосидерина, белая пульпа четко выражена и представлена большими скоплениями лимфоидных клеток вокруг пульпарных сосудов, эти скопления формировали крупные и тесно расположенные фолликулоподобные структуры без светлых центров (рис.1а).

Таблица 1 – Массовые коэффициенты органов подопытных крыс *(M±m), %*

Органы	Группы животных			
	I	II	III	IV
Селезёнка	1,130±0,011***	0,880±0,047***$_{\Delta\Delta\Delta}$	0,370±0,029	0,320±0,022
Тимус	0,030±0,0018***	0,032±0,0020***	0,060±0,0056	0,060±0,0045

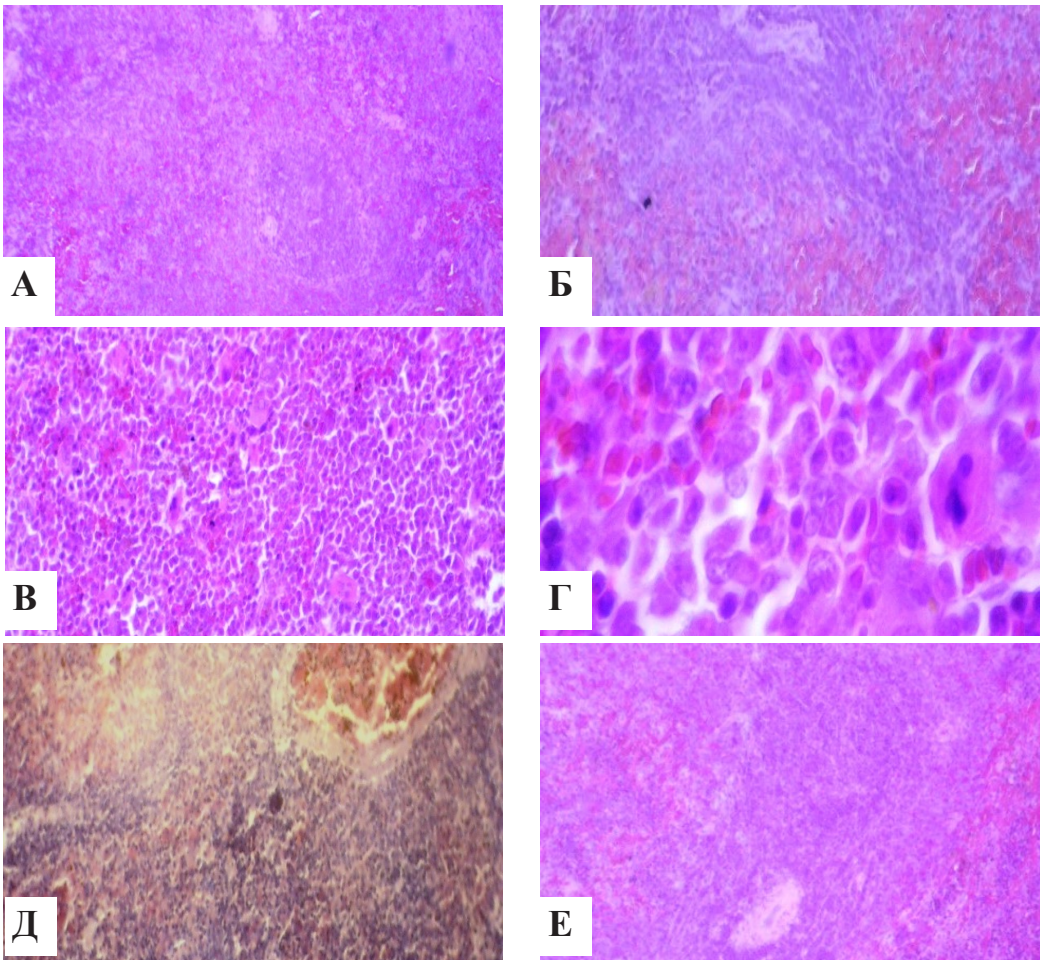


Рисунок 1 – Архитектоника селезёнки подопытных крыс:
А - фолликулоподобные структуры без светлых центров (группа IV); Б –белая и красная пульпа; В,Г – крупные клетки с большим числом ядер, имевших морфологию мегакариоцитов (группа I); Д- капилляры с гематосидерофагоми (группа II);
Е - скоплениями лимфоидных клеток вокруг пульпарных сосудов (группа III).
Увел.: А,Б,В,Д,Е – 40х; Г- 100х.

У крыс с индуцированной циклофосфамидом иммуносупрессией (группа I) архитектоника селезёнки была представлена белой и красной пульпой (рис.1б). Красная пульпа - с выраженным полнокровием и большим количеством гранул гемосидерина, частью лежащих свободно, частью расположенных в цитоплазме гематоседерофагов. В синусах определялось большое количество крупных клеток с большим числом ядер, имевших морфологию мегакариоцитов (рис.1 в, г). Кроме того, в синусах красной пульпы присутствовали мононуклеары среднего размера с морфологией, близкой к бластным клеткам. В капиллярах красной пульпы отмечали большое число гематосидерофагов. Белая пульпа во всех исследованных тканях выглядит запустевшей. Артерии лимфоидных фолликулов запустевшие. Периартериальные муфты просветленные.

Структурная организация селезёнки в группе II была представлена запустевшей красной пульпой, в капиллярах видно большое число гематосидерофагов (рис.1д) и единичные клетки среднего размера с морфологией бластных. Белая пульпа представлена скоплениями лимфоцитов вокруг пульпарных сосудов, формирующих мелкие и неправильной формы фолликулоподобные комплексы без светлых центров.

В структурной организации селезёнки крыс, которым применяли препарат интерферона лямбда (группа III), красная пульпа полнокровная с незначительным количеством гранул гемосидерина, белая пульпа хорошо выражена и представлена большими скоплениями лимфоидных клеток вокруг пульпарных сосудов (рис.1е), эти скопления формируют крупные и тесно расположенный фолликулоподобные структуры без различимых светлых центров.

В соответствии с данными, представленными в таблице 2, можно сделать вывод, что при индуцировании циклофосфамидом иммуносупрессии убыль белой пульпы составила 73,0-77,5% относительно группы контрольных животных. В группе крыс, которым применяли интерферон лямбда (группа II), это значение на 20,0% ниже, чем в группе I, что может свидетельствовать о положительном иммунотропном влиянии исследуемого препарата.

Таблица 2 – Морфометрическая характеристика селезёнки подопытных крыс

Площадь, мкм^2	Группы животных			
	I	II	III	IV
Белая пульпа	0,065±0,0061**	0,078±0,0040***	0,251±0,0110	0,289±0,0223

*Примечание: **при p<0,005, ***при p<0,0005 относительно группы IV*

Полученные данные соответствуют результатам других исследований, демонстрирующих поражение селезенки и некоторых других органов у крыс, получавших инъекции циклофосфамида: наличие некроза лимфоцитов в лимфатических фолликулах и периартериальных лимфоидных оболочках участков белой пульпы; фиброз селезенки в участках красной пульпы. Однако, в отличие от наших результатов, в этой работе наблюдалось снижение массы селезенки при двукратном введении ЦФ внутрибрюшинно в дозе 50 мг/кг. Полученные отличия, возможно, могут быть объяснены другим режимом применения препарата и большим сроком восстановления крыс перед эвтаназией [9]. Действительно, наибольшее увеличение массы селезенки при введении ЦФ наблюдалось к 7 суткам после начала введения данного цитостатика, которое возникало, как компенсаторная реакция на гематосупрессию, и проявлялось в виде экстрамедулярного гематопоэза (наблюдается увеличение клеточности селезенки и числа колониеобразующих

единиц) [10]. Поэтому гистологические изменения, которые наблюдались нами в селезёнке у крыс с ЦФ-индуцированной иммуносупрессией, проявлялись в угнетении иммунных тканей и возникновении компенсаторного экстрамедуллярного гематопоэза. При этом экстрамедуллярный гематопоэз в некоторых случаях вызывает серьезные органные осложнения, усугубляющие симптомы исходного заболевания и своевременное прекращение мобилизации экстромедулярных гематопоэтических стволовых клеток (HSC) может привести к устранению патогена и регенерации тканей [11]. При этом известно, что интерфероны типов I и II, в частности интерферон альфа (ИФНα) и интерферон гамма (ИФНγ), играют важную роль в самообновлении, покое и дифференцировке гемопоэтических стволовых клеток. Влияние интерферона лямбда (ИФНλ) на гистологическую картину иммунных органов изучено значительно меньше. Вместе с тем применение интерферона лямбда индуцирует в клетках активацию ряда генов, сходных с генами, индуцируемыми ИФНα, что позволяет предполагать сходство их биологического действия на клетки [12]. Передача сигналов интерферона имеет решающее значение для выхода из состояния покоя гематопоэтических стволовых клеток (HSC), но контекст и продолжительность передачи сигналов интерферона в остром и хроническом контексте определяют влияние ИФН на биологию зрелых гематопоэтических стволовых клеток. Стрессовые воздействия, могут привести к постоянной передаче сигналов ИФН и нарушить баланс гомеостаза HSC [13]. Таким образом, выявленное нами увеличение доли белой пульпы и снижение экстрамедуллярного гематопоэза в селезенке при введении интерферона лямбда крысам из группы II могло быть вызвано, стимулируемым интерфероном лямбда увеличением активности HSC, что в свою очередь приводило к ускоренной нормализации гомеостаза и предотвращению патологического экстрамедуллярного гематопоэза.

Архитектоника тимуса крыс группы IV (негативный контроль) была представлена типичным строением (рис.2а), границы мозгового и коркового слоёв различимы, в части дольки хорошо виден широкий корковый слой и относительно тонкий мозговой. В сосудистом «бассейне» мозгового слоя отмечали незначительное количество мононуклеарных лейкоцитов. Фолликулярные структуры во всех микропрепаратах различимы.

У крыс группы I при гистологическом анализе архитектоники тимуса выявлено стирание границ мозгового и коркового слоёв (рис.2б), в части дольки хорошо виден широкий мозговой слой и относительно тонкий корковый. В сосудистом «бассейне» мозгового слоя отмечали значительное количество мононуклеарных лейкоцитов. Фолликулярные структуры во всех микропрепаратах были неразличимы, в некоторых полях зрения видны скопления гранул бурого пигмента, напоминающие гемосидерин.

В тимусе группы II мозговой слой выглядит запустевшим, корковый слой также с признаками убыли лимфоидных клеток, гистологический «рисунок» во всех исследованных кусочках полностью стёрт (рис.2в).

В группе III паренхима тимуса выражена, дольки органа полигональной и овальной формы, разделенные стромальным компонентом, с четкими границами между корковым и мозговым веществом (рис.2г). Корковый слой был представлен обширным «пулом» клеток гемопоэтического и эпителиального происхождения. В мозговом веществе выявлялись единичные тельца Гассаля и созревающие тимоциты. Сосудистое русло запустевшее.

Для тимуса крыс характерна высокая степень реактивности в ответ на введение циклофосфамида, проявляющаяся в развитии акцидентальной инволюции. Ведущим фактором гипоплазии тимуса в ранние сроки экспериментальной иммуносупрессии является избыточный апоптоз тимоцитов подкапсулярной и кортикальной зон долек тимуса, угнетение их пролиферативной активности, а также разви-

тие деструктивно-дистрофических изменений в ядрах и цитоплазме ряда тимоцитов, приводящих в последствии к некрозу клеток. При этом данные изменения имеют обратимый характер [14].

В печени крыс группы контроля (группа IV) (рис.3а) выявлено полнокровие капиллярной сети, единичные гепатоциты с признаками дистрофии. В просвете сосудов встречаются единичные лимфостазы.

В паренхиме печени крыс с иммуносупрессией (группа I), индуцированной циклофосфамидом, наблюдалось полнокровие капиллярной сети, набухшие гепатоциты в цитоплазме которых выявлялись белковые «зерна» с дискомплексацией балочной структуры. Перипортально выявлены очаги рыхлой волокнистой соединительной ткани с небольшим количеством лимфоцитов (рис.3б, в, г).

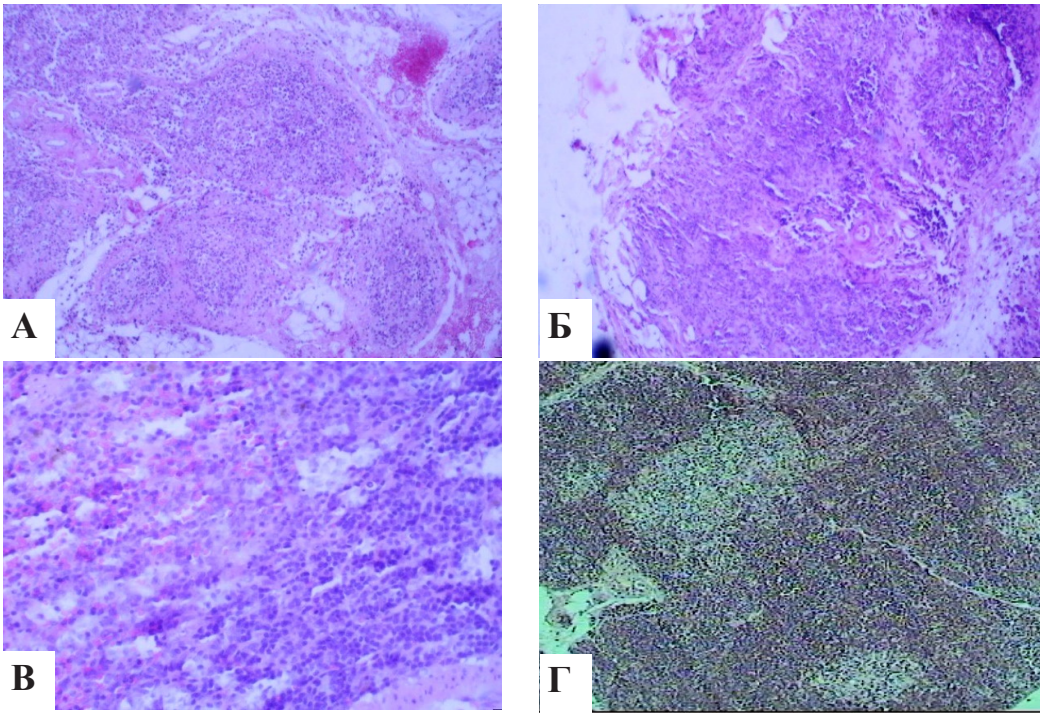


Рисунок 2 – Архитектоника ткани тимуса опытных крыс: А - лимфоидная ткань с частично стёртым рисунком (группа IV); Б - стирание рисунка лимфоидной ткани (группа I); В – разряженный клеточный «пул» паренхимы тимуса (группа II); Г – широкий корковый и относительно тонкий мозговой слой (группа III). Окраска гематоксилин-эозин. Увел.: А,Б,Г – 40х; В-90х.

При гистологическом исследовании печени иммуносупрессированных крыс, которым вводили препарат интерферона лямбда (группа II), выявляли гепатоциты со светлой цитоплазмой и признаками белковой дистрофии, капиллярная сеть полнокровная. Перипортально выявлены очаги скопления лимфоцитов и мелкие очажки фиброза (рис.3д).

В печени крыс группы III отмечали полнокровие капиллярной сети, часть гепатоцитов - с признаками дистрофии, в части сосудов - единичные лимфостазы (рис.3 е, ж).

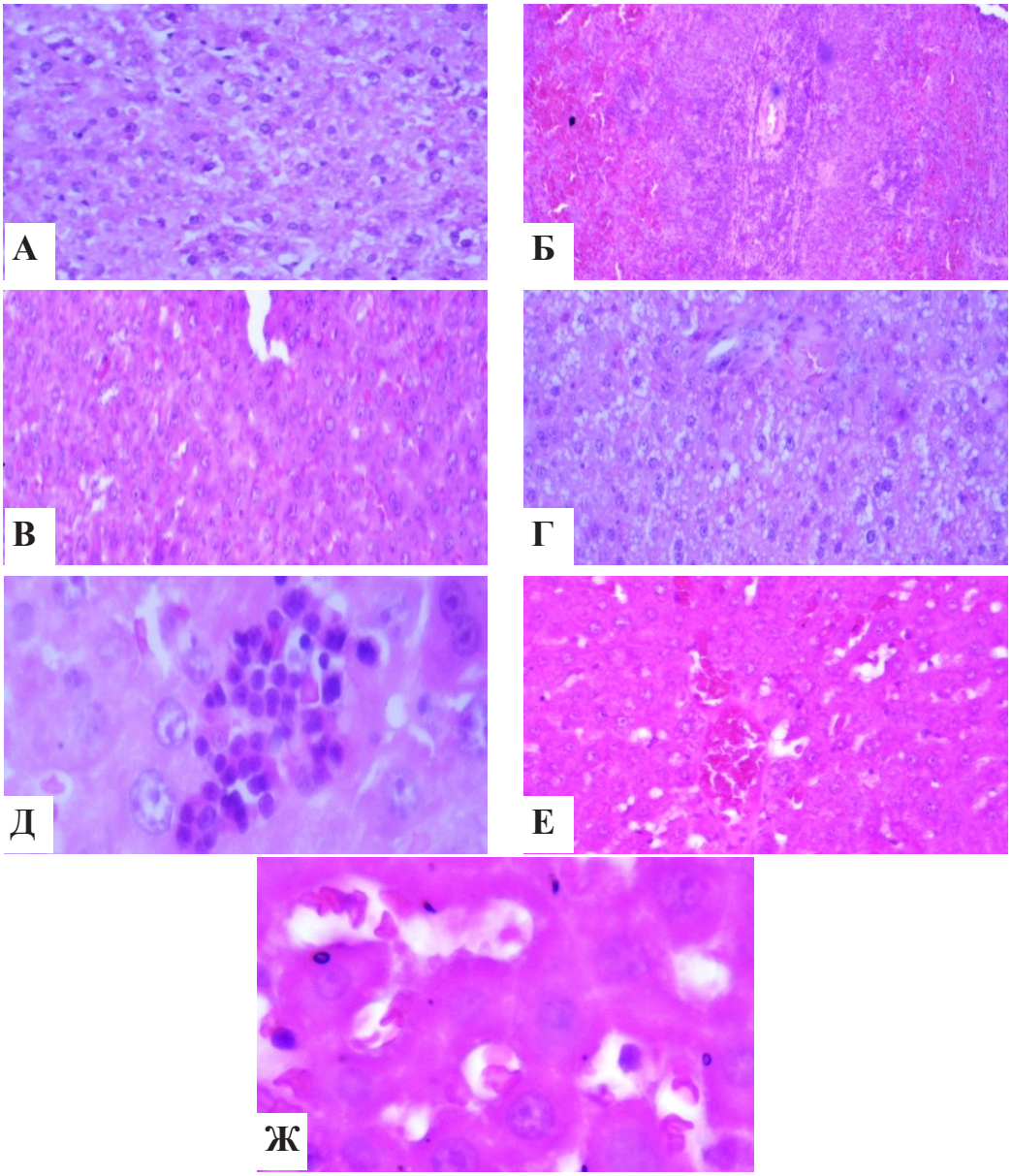


Рисунок 3 – Гистологическая структура печени подопытных крыс:
А - неравномерное кровенаполнение капиллярной сети печени (группа IV);
Б - перипортальный фиброз в печени, инфильтрация лейкоцитами,
В - белковая дистрофия гепатоцитов, Г - жировая и гидропическая дистрофия гепатоцитов (группа I); Д - очаговые лимфоидные скопления, единичный двуядерный гепатоцит (группа II); Е - полнокровие в области центральных вен;
Ж - полнокровие капиллярной сети гепатоцитов (группа III).
Окраска гематоксилин-эозин. Увел.: б, в, г, е - 40х; а, д, ж - 100х.

Таким образом одновременное применение ЦФ и интерферона лямбда не вызывало значительных изменений в печени крыс исследуемых групп через 24 дня после введения ЦФ.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Полученные данные демонстрируют, что моделирование иммуносупрессии в эксперименте на крысах введением ЦФ оказало длительное иммуносупрессивное действие на органы иммунной системы (тимус и селезенка), сохранявшиеся на протяжении 24 дней. Наибольшую чувствительность к воздействию циклофосфамида проявила лимфоидная и кроветворная ткани, что проявлялось в уменьшении количества лимфоидных клеток в соответствующих органах и наличие очагов скопления бластных клеток и мегакариоцитов, что–можно расценить как компенсаторную реакцию в ответ на снижение лимфоцитов и тромбоцитов периферической крови (экстрамедуллярный гематопоэз).

При этом терапевтическое введение интерферона лямбда крысам с ЦФ-индуцированной иммуносупрессией (группа II), вероятно, приводило к активизации регенеративных процессов в иммунокомпетентных органах, в частности в селезенке, поскольку при его введении наблюдалось частичное сохранение лимфоидных клеток и структуры организации иммунной ткани в селезенке и тимусе, увеличивалась доля белой пульпы. Кроме того, снижение коэффициента массы селезенки и содержания бластных мононуклеаров в селезенке крыс при введении интерферона лямбда, может свидетельствовать о снижении процессов экстрамедуллярного гематопоэза и нормализации гомеостаза. Представленные факты могут свидетельствовать о иммуно - и органопротективных свойствах интерферона лямбда.

Кроме того, заметных морфологических изменений при воздействии на организм здоровых крыс препарата интерферона лямбда в исследованных органах не выявлено, морфологическая картина сходна с таковой у интактных животных, что может свидетельствовать о безопасности его применения животным.

ARCHITECTONICS OF PARENCHYMAL ORGANS OF WHITE RATS UNDER CONDITIONS OF INDUCED IMMUNOSUPPRESSION AND THE USE OF INTERFERON LAMBDA

Vostroilova G.A. – Doctor of Biological Sciences, Chief of Science. sotr. Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems (ORCID 0000-0002-2960-038X); **Khokhlova N.A.** – Cand. veterinarian. sciences, art. sci. sotr. Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems (ORCID 0000-0001-6861-2554); **Mikhailov E.V.** – Cand. veterinarian. sci., ved. sci. sotr. Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems (ORCID 0000-0001-5457-1325); **D.I. Shabanov** – Scientific. sotr. Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems (ORCID 0000-0002-1574-1317); **Korchagina A.A.** – art. scientific. sotr. Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems (ORCID 0000-0002-8561-417X); **Nekrasov A.V.** – Senior Laboratory Assistant of the Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems (ORCID 0000-0002-5957-1583); **Shabunin B.V.** – Senior Laboratory Assistant of the Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems (ORCID 0000-0002-2234-3851).

All-Russian Research Veterinary Institute of Pathology, pharmacology and therapy"

*nina_xoxlova@mail.ru

ABSTRACT

Violation of the functioning of the organs of the immune system, both in humans and in animals, is due to the influence of unfavorable factors of natural and anthropogenic origin on the body, as well as infectious diseases of various etiologies. The article dis-

cusses changes in the architectonics of parenchymal organs of white laboratory rats after exposure to the drug interferon lambda on the background of cyclophosphamide (CF). It was found that modeling of immunosuppression through the use of CF led to a decrease in the number of lymphoid cells and the appearance of foci of accumulation of blast cells and megakaryocytes, which indicates a lesion of lymphoid and hematopoietic tissues. In addition, an immunosuppressive effect on the spleen was revealed, the mass coefficient of which in the group with the use of CF was increased 3.53 times, in the group with the simultaneous use of CF and the drug interferon lambda – 2.75 times relative to the control group. There was also a decrease in the mass coefficient of the thymus by 47.6-50.0% in the same groups, which can be regarded as damage to the organs of the immune system. The negative effect of CF on the spleen was confirmed by histological examination. Thus, when inducing immunosuppression, the loss of white pulp was 73.0-77.5% relative to the group of control animals, which is 20.0% higher than in rats treated with interferon lambda, which may indicate a positive immunotropic effect of the drug under study. In addition, no significant morphological changes were detected when the body of healthy rats was exposed to interferon lambda in the studied organs, the morphological picture is similar to that of intact animals, which may indicate the safety of its use to animals.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Гайдай Д.С., Кательникова А. Е., Крышень К.Л., Гайдай Е.А., Гущин Я.А., Макарова М.Н. Разработка модели иммуносупрессии у кроликов, вызванной внутривенным введением циклофосфамида. Лабораторные животные для научных исследований. 2019. № 2. С. 2. DOI 10.29296/2618723X-2019-02-02.

2.Шабунин С.В., Востроилова Г. А., Хохлова Н. А., Шабанов Д. И., Корчагина А. А., Некрасов А. В., Чусова Г. Г. Изучение иммунотропных эффектов препарата интерферона лямбда при иммуносупрессии, индуцированной циклофосфамидом. Достижения науки и техники АПК. 2023. Т. 37. № 8. С. 92–97. DOI 10.53859/02352451_2023_37_8_92

3.Хохлова Н.А., Востроилова Г. А., Корчагина А. А., Жуков М.С., Шабанов Д.И., Некрасов А.В. Токсикологическое исследование препарата интерферона лямбда при его многократном введении белым крысам. Ветеринарный фармакологический вестник. 2023. № 1(22). С. 31-46. DOI 10.17238/issn2541-8203.2023.1.31

4.Полюга Н.Л., Крышень К.Л., Муразов Я.Г., Трофимец Е.И., Гущин Я.А., Бельтюков П.П., Скворцов Н.В. Характеристика модели циклофосфамидиндуцированной иммуносупрессии у мышей линии Balb/c. Лабораторные животные для научных исследований. 2023. № 1. С. 4–13. DOI: 10.57034/2618723X- 2023.01.01.

5.Гринько Е.К., Марзанова С.Н., Донецкова А.Д. Исследование восстановительных процессов после индукции лимфопении циклофосфаном в экспериментальной модели на мышах. Национальная ассоциация ученых. 2020. № 56. С. 5-9.

6.Луговик И.А., Макарова М.Н. Токсикологические исследования. Референтные интервалы массовых коэффициентов внутренних органов на выборке, состоящей из 1000 аутбредных крыс. Лабораторные животные для научных исследований. 2021. №1. С. 3–11. DOI:10.29296/2618723X-2021-01-01.

7.Методы морфологических исследований: Методическое пособие / С. М. Сулейманов, А. В. Гребенщиков, Е. В. Михайлов [и др.]. – 2-е издание, исправленное и дополненное. – Воронеж: Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук, 2007. 87 с.

8.Abràmoff M. D., Magalhães P. J., Ram S. J. Image processing with ImageJ. Biophotonics international. 2004. Т. 11. № 7. С. 36–42.

9.Al-Salih H.A., Al-Sharafi N.M., Al-Qabi S.S., Al-Darwesh A.A. The Pathological Features of Cyclophosphamide Induced Multi-Organs Toxicity in Male Wister Rats.

Sys. Rev. Pharm. 2020. №11(6). pp. 45-49. DOI: 10.31838/srp.2020.6.10.
10.Wang Y., Meng Q., Qiao H., Jiang H., Sun X. Role of the spleen in cyclophosphamide-induced hematosuppression and extramedullary hematopoiesis in mice. Arch Med Res. 2009. №40 (4). pp. 249-55. DOI: 10.1016/j.arcmed.2009.04.003.
11.Yang X., Chen D., Long H. [et al.] The mechanisms of pathological extramedullary hematopoiesis in diseases. Cell. Mol. Life Sci. 2020. №77. pp. 2723–2738. DOI:10.1007/s00018-020-03450-w/
12.Broggi A., Granucci F., Zanoni I. Type III interferons: Balancing tissue tolerance and resistance to pathogen invasion. Journal of Experimental Medicine. 2020. e20190295. DOI:10.1084/jem.20190295.
13.Demerdash Y., Kain B., Essers M.A.G., King K.Y. Yin and Yang: The dual effects of interferons on hematopoiesis. 2021. № 96. pp. 1-12. DOI: 10.1016/ j.exphem.2021.02.002.
14.Бобрышева И.В. Изменения ультраструктуры тимуса белых крыспосле введения циклофосфамида. Вестник ВГМУ. 2013. Т.12, №4. С 63-69.

REFERENCES

1. Gaidai D.S., Katelnikova A. E., Kryshen K.L., Gaidai E.A., Gushchin Ya.A., Makarova M.N. Development of a model of immunosuppression in rabbits caused by intravenous administration of cyclophosphamide. Laboratory animals for scientific research. 2019. No. 2. p. 2. DOI 10.29296/2618723X-2019-02-02 .
2. Shabunin S.V., Vostroilova G. A., Khokhlova N. A., Shabanov D. I., Korchagina A. A., Nekrasov A.V., Chusova G. G. Study of immunotropic effects of interferon lambda drug in cyclophosphamide-induced immunosuppression. Achievements of science and technology of the agro-industrial complex. 2023. Vol. 37. No. 8. pp. 92-97. DOI 10.53859/02352451_2023_37_8_92
3. Khokhlova N.A., Vostroilova G. A., Korchagina A. A., Zhukov M.S., Shabanov D.I., Nekrasov A.V. Toxicological study of interferon lambda drug with its repeated administration to white rats. Veterinary Pharmacological Bulletin. 2023. No. 1(22). pp. 31-46. DOI 10.17238/issn2541-8203.2023.1.31
4. Polyuga N.L., Kryshen K.L., Murazov Ya.G., Trofimets E.I., Gushchin Ya.A., Beltyukov P.P., Skvortsov N.V. Characteristics of the cyclophosphamide-induced immunosuppression model in Balb/c mice. Laboratory animals for scientific research. 2023. No. 1. pp. 4-13. DOI: 10.57034/2618723X-2023.01.01.
5. Grinko E.K., Marzanova S.N., Donetskova A.D. Investigation of recovery processes after induction of lymphopenia by cyclophosphane in an experimental mouse model. National Association of Scientists. 2020. No. 56. pp. 5-9.
6. Lugovik I.A., Makarova M.N. Toxicological studies. Reference intervals of mass coefficients of internal organs in a sample consisting of 1000 outbred rats. Laboratory animals for scientific research. 2021. No.1. pp. 3-11. DOI:10.29296/2618723X-2021-01-01 .
7. Methods of morphological research: Methodological manual / S. M. Suleymanov, A.V. Grebenshchikov, E. V. Mikhailov [et al.]. – 2nd edition, revised and supplemented. – Voronezh: State Scientific Institution All-Russian Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy of the Russian Academy of Agricultural Sciences, 2007. 87 p.
8.Abràmoff M. D., Magalhães P. J., Ram S. J. Image processing with ImageJ. Biophotonics international. 2004. vol. 11. No. 7. pp. 36-42.
9.Al-Salih H.A., Al-Sharafi N.M., Al-Qabi S.S., Al-Darwesh A.A. The Pathological Features of Cyclophosphamide Induced Multi-Organs Toxicity in Male Wister Rats. Sys. Rev. Pharm. 2020. No. 11(6). pp. 45-49. DOI: 10.31838/srp.2020.6.10.
10.Wang Y., Meng Q., Qiao H., Jiang H., Sun X. Role of the spleen in cyclophosphamide-induced hematosuppression and extramedullary hematopoiesis in mice. Arch Med Res. 2009. No.40 (4). pp. 249-55. DOI: 10.1016/j.arcmed.2009.04.003.
11.Yang X., Chen D., Long H. [et al.] The mechanisms of pathological extramedullary

hematopoiesis in diseases. Cell. Mol. Life Sci. 2020. No.77. pp. 2723-2738. DOI:10.1007/s00018-020-03450- w/

12.Broggi A., Granucci F., Zanoni I. Type III interferons: Balancing tissue tolerance and resistance to pathogen invasion. Journal of Experimental Medicine. 2020. e20190295. DOI:10.1084/jem.20190295.

13.Demerdash Y., Kain B., Essers M.A.G., King K.Y. Yin and Yang: The dual effects of interferons on hematopoiesis. 2021. No. 96. pp. 1-12. DOI: 10.1016/ j.exphem.2021.02.002.

14. Bobrysheva I.V. Changes in the ultra-structure of the thymus of white rats after the introduction of cyclophosphamide. Bulletin of the VSMU. 2013. Vol.12, No. 4. C 63-69.

УДК: 636.4
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.173

ПОКАЗАТЕЛИ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МАТКИ У ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ СВИНОМАТОК ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ СУПРАФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ДОЗ ОКСИТОЦИНА

Филатов А.В. [1]* – д-р ветеринар. наук, проф. (ORCID 0000-0003-4557-844X); **Минин А.В.**[2] – канд. ветеринар. наук.

[1] ФГБОУ ВО «Вятский государственный агротехнологический университет», Институт агробиотехнологий им. А.В. Журавского Коми научного центра УрО РАН
[2] ООО «Восточный»

*fav6819@yandex.ru

Ключевые слова: *свиноматки, послеродовой период, сократительная активность матки, окситоцин.*
Keywords: *sows, postpartum period, contractile activity of the uterus, oxytocin.*

Поступила: 06.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Применения больших доз окситоцина свиноматкам в ранний послеродовой период показано для нормализации лактогенеза, повышения иммунных белков в молозиве и переходном молоке, профилактики послеродовых осложнений, а также повышения жизнеспособности приплода. Однако влияние данных доз миотропного препарата на сократительную деятельность матки не показана. Целью работы являлось изучение сократительный функции матки высокопродуктивных свиноматок в ранний послеродовой период и особенности ее реакции на супрафизиологические дозы окситоцина. Научно-производственный опыт проводили на базе крупного свиноводческого комплекса. Объектом исследования служили высокопродуктивные свиноматки через 16 часов после завершения нормальных родов. Животным гормональный препарат окситоцин вводили внутримышечно в супрафизиологической дозе 75 ЕД. Запись гистерограмм маточных сокращений осуществляли методом внутренней гистерографии до и сразу после введения миотропного препарата, а также через один час после инъекции. На гистерограммах спонтанная сократительная активность матки у высокопродуктивных свиноматок характеризовалась регулярными, непродолжительными сокращениями оптимальной амплитуды. Активизация сократительной функции миометрия происходит через 5-7 минут после инъекции препарата. После введения окситоцина отмечали увеличение величины амплитуды сокращения гладкомышечных клеток матки на 39,17% ($p<0,05$), при этом регистрировали более длительный период сокращений на 31,64%. Частота маточных сокращений увеличивалась в 2,0 раза ($p<0,01$). Контракционный индекс достоверно в 3,66 раза ($p<0,05$) превышал таковой по отношению к исходному уровню. Через 1 ч после введения окситоцина отмечали увеличение периода сокращения на 5,42%, при снижении амплитуды на 37,87% ($p<0,01$) и числа сокращений на

49,91% (p<0,01), контракционный индекс снизился в 3,05 раза (p<0,01) по отношению к предыдущему уровню. По отношению к первоначальному уровню контракционный индекс был выше на 20,0%. При этом отмечали увеличение продолжительности сокращений на 38,78% и снижение их амплитуды на 13,53%. Следовательно, окситоцин дозе 75 ЕД не нарушает контрактильную способность миометрия. Ответная реакция гладкомышечных клеток матки на супрафизиологическую дозу окситоцина максимально проявляется в первый час после введения миотропного препарата.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Репродуктивная функция маточного поголовья во многом зависит от сократительной активности гладкомышечных клеток матки. Контрактильная способность миометрия у свиноматок определяет продолжительность послеродового периода, возникновение в нем функциональной и воспалительной патологии [2, 6].

Физиологическая активность матки регулируется симпатическими, парасимпатическими и сенсорными нейронами. В миометрии расположены α- и β-адрено- и м-холинорецепторы, рецепторы к эстрогенам, прогестерону, простагландину, окситоцину и гистамину [10].

Окситоцин - важный гормон в репродуктивной функции, оказывающий физиологическое влияние на сокращение гладкомышечных клеток миометрия, связанное с функцией матки и выбросом молока в период лактации. Он вырабатывается в гипоталамусе и высвобождается в кровоток задней долей гипофиза [9]. Сокращающее действие окситоцина на матку определяется уровнем окситоциновых рецепторов и связано с ц-АМФ и кальцием [1, 5].

Применения больших доз окситоцина свиноматкам в ранний послеродовой период показано для нормализации лактогенеза, повышения иммунных белков в молозиве и переходном молоке, профилактики послеродовых осложнений, а также повышения жизнеспособности приплода.

Введение свиноматкам в раннем послеродовом периоде больших доз окситоцина (75ЕД) задерживает возникновение уплотнения плотных соединений молочной железы и продлевает молозивную фазу, тем самым благотворно влияет на состав молозива. В секрете молочной железы, собранном через 8 ч после инъекции окситоцина, увеличивалась концентрация ИФР-I, IgG и IgA. Улучшенный состав молозива и переходного молока потенциально может повлиять на иммунный статус новорожденных поросят [8]. Однако в своих исследованиях при использовании окситоцина однократно или двукратно в дозе 75ЕД в течение 3 суток нами не было выявлено увеличение концентрации иммуноглобулинов в молозиве свиноматок, так и их уровень в сыворотке крови поросят [3, 7]. Однако несмотря на противоречивость мнений по содержанию иммуноглобулинов в молозиве во всех исследованиях показана более высокая сохранность поросят в неонатальный период, что создает перспективы для дальнейшего применения супрафизиологических доз окситоцина свиноматкам в ранний послеродовой период. Вместе с тем влияние данных доз на сократительную функцию матки у маточного поголовья и особенно у высокопродуктивных свиноматок остается не изученной.

Цель работы – изучить сократительный потенциал миометрия высокопродуктивных свиноматок в ранний послеродовой период и особенности его реакции на супрафизиологические дозы окситоцина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Клинико-экспериментальные исследования выполнены в условиях свиноводческого комплекса на трех высокопродуктивных свиноматках, имеющих в анамнезе три опороса. Влияние супрафизиологической дозы окситоцина на контрактильную активность матки свиноматок изучали по прошествии 12 часов от момента завершения третьей стадии родов при условии нормального их течения. Для этого подопытным животным окситоцин

вводили внутримышечно в дозе 75 ЕД.

Запись гистерограмм маточных сокращений осуществляли в течение 30 минут перед назначением, сразу после и через 1 ч от момента введения миотропного препарата. Фиксацию сократительной деятельности матки у свиноматок осуществляли методом внутренней гистерографии с использованием прибора «Гистерограф» [4]. Воспринимающее устройство вводили в полость матки, в систему нагнетали воздух для создания давления величиной 40-50 мм. рт. ст., а затем включали лентопротяжный механизм и осуществляли регистрацию маточных сокращений. При анализе гистерограмм определяли амплитуду, частоту и продолжительность сокращений, а на их данных рассчитывали контракционный индекс.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

По данным записей гистерограмм полученными через 16 часов после завершения родов спонтанная сократительная активность матки у высокопродуктивных свиноматок характеризуется регулярными, непродолжительными сокращениями оптимальной амплитуды. Интегральный показатель функциональной активности миометрия составил 121,05±40,40 ед.

Внутримышечное введение супрафизиологической дозы окситоцина свиноматкам в ранний послеродовый период оказывает выраженное стимулирующее влияние на сократительную функцию матки. Активизация функциональной деятельности миометрия происходит за счет усиления и учащения сокращений матки, а также повышения ее тонуса. Чувствительность рецепторов миоцитов матки к экзогенному окситоцину начинает проявляться в первые 5-7 минут после его парентерального введения.

Анализ гистерограмм полученных в первые 30 минут после введения большой дозы окситоцина свидетельствует о повышении амплитуды и продолжительности сокращений на 39,17% ($p<0,05$) и 31,64%, соответственно, а также их количества в 2,0 раза ($p<0,01$). Контракционный индекс при этом возрастает в 3,66 раза ($p<0,05$) по отношению к исходному уровню.

Через 1 час после введения окситоцина сократительная активность матки начинает снижаться. Снижение активности миометрия происходит за счет амплитуды и числа сокращений на 37,87% ($p<0,01$) и 49,91% ($p<0,01$), соответственно. При этом продолжительность сокращений продолжает увеличиваться на 5,42%. Значительное снижение силы и количества сокращений приводит к различиям в показателях индекса контракции в 3,05 раза ($p<0,01$).

Вместе с тем, необходимо отметить, что ответная реакция гладкомышечных клеток миометрия по истечению 1 часа после введения экзогенного окситоцина была выше, чем до его применения. Так, в этот временной промежуток при равной

Таблица 1 – Сократительная активность матки свиноматок при воздействии супрафизиологических доз окситоцина

Показатель	Период исследования		
	до введения	после введения	через 1 час после введения
Амплитуда, мм.рт.ст.	23,13±1,88	32,19±3,41*	20,00±2,11**
Продолжительность, мин.	1,96±0,40	2,58±0,26	2,72±0,47
Число сокращений, количество/30 минут	2,67±0,33	5,33±0,33**	2,67±0,33**
Контрактационный индекс, ед.	121,05±40,40	442,66±79,78*	145,25±33,40*

** – P<0,05, ** – P<0,01 по отношению к предыдущим данным.*

частоте сокращений регистрировали только снижение их амплитуды на 13,53%, а продолжительность была выше на 38,78%. При этом показатель контракционного индекса превышал первоначальный уровень на 20,0%. Полученные данные свидетельствуют о том, что, окситоцин дозе 75 ЕД не нарушает контрактильную способность миометрия, а ответная реакция матки на его супрафизиологическую дозу максимально проявляется в первый час после введения миотропного препарата.

На фоне высокой контрактильной активности гладкомышечных клеток матки после введения больших доз окситоцина происходит обильное выделение лохий и остатков плодных оболочек у некоторых животных на 1-2 день после родов. У свиноматок реже развиваются клинические признаки, связанные с нарушением лактации, воспалением матки и молочной железы [3, 7]. Повышение сократительной функции матки у свиноматок сопровождается уменьшением ее полости, предотвращением скопления в ней содержимого, микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности, что существенно облегчает течение послеродовых инволюционных процессов в половых органах.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В ранний послеродовый период сократительная активность матки высокопродуктивных свиноматок характеризуется регулярными, непродолжительными сокращениями оптимальной амплитуды. Индуцированная супрафизиологической дозой окситоцина сократительная функция матки сопровождается повышением ее потенциала без дальнейшего нарушения контрактильной способности. Максимальная ответная реакция маточных структур проявляется в течение первого часа после введения утеротонического средства. Поэтому супрафизиологические дозы окситоцина можно рекомендовать для включения в протокол при организации профилактических мероприятий в послеродовой период у свиноматок.

INDICATORS OF UTERINE CONTRACTILE ACTIVITY IN HIGHLY PRODUCTIVE SOWS WHEN USING SUPRAPHYSIOLOGICAL DOSES OF OXYTOCIN

Filatov A.V.[1*] – doctor of veterinary sciences, professor; **Minin A.V.**[2] – candidate of veterinary sciences.

[1]Vyatka State Agrotechnological University, Zhuravsky Institute of Agrobiotechnologies of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

[2]Vostochny LLC

* fav6819@yandex.ru

ABSTRACT

The use of large doses of oxytocin to sows in the early postpartum period is indicated to normalize lactogenesis, increase immune proteins in colostrum and transitional milk, prevent postpartum complications, and increase the viability of the offspring. However, the effect of these doses of myotropic drug on the contractile activity of the uterus is not shown. The aim of the work was to study the contractile function of the uterus of highly productive sows in the early postpartum period and the peculiarities of its reaction to supraphysiological doses of oxytocin. Scientific and production experience was carried out on the basis of a large pig breeding complex. The object of the study was highly productive sows 16 hours after the completion of normal labor. The hormonal drug oxytocin was administered intramuscularly to animals at a supraphysiological dose of 75 units. Hysterograms of uterine contractions were recorded by internal hysterography before and immediately after administration of the myotropic drug, as well as one hour after injection. On hysterograms, spontaneous contractile activity of the uterus in highly productive sows was characterized by regular, short-term contractions of the optimal amplitude. Activation of the contractile function of the myometrium occurs 5-7 minutes after injection of the drug. After administration of oxytocin, an increase in the amplitude of contraction of uterine smooth muscle cells was noted by 39.17% ($p<0.05$), while a longer period of contractions was

recorded by 31.64%. The frequency of uterine contractions increased 2.0 times ($p<0.01$). The contract index was significantly 3.66 times ($p<0.05$) higher than that in relation to the initial level. After 1 hour after oxytocin administration, an increase in the contraction period by 5.42% was noted, with a decrease in amplitude by 37.87% ($p<0.01$) and the number of contractions by 49.91% ($p<0.01$), the contractional index decreased by 3.05 times ($p<0.01$) relative to the previous level. In relation to the initial level, the contract index was 20.0% higher. At the same time, an increase in the duration of contractions by 38.78% and a decrease in their amplitude by 13.53% were noted. Consequently, oxytocin at a dose of 75 ME not violate the contractile ability of the myometrium. The response of the smooth muscle cells of the uterus to the supraphysiological dose of oxytocin is maximally manifested in the first hour after the administration of the myotropic drug.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Абрамченко ВВ. Послеродовый эндометрит и субинволюция матки. СПб. 2008. - 228с.
2. Антимикробная и утеротоническая активность комплексного препарата Метрамаг®-15 при послеродовых и гинекологических заболеваниях свиноматок / В. П. Хлопицкий, А. В. Филатов, Л. М. Ушакова, М. А. Азямов // Ветеринария. – 2019. – № 1. – С. 10-15.
3. Минин, А. В. Эффективность применения больших доз окситоцина высокопродуктивным свиноматкам в послеродовой период / А. В. Минин, А. В. Филатов // Свиноводство. – 2022. – № 7. – С. 35-37. – DOI 10.37925/0039-713X-2022-7-35-37.
4. Патент на полезную модель № 27478 U1 Российская Федерация, МПК A61D 7/00. Устройство для гистерографии: № 2002109668/20: заявл. 11.04.2002 : опубл. 10.02.2003 / И. Г. Конопельцев, Н. В. Плетенев, С. В. Сурков [и др.] ; заявитель Вятская государственная сельскохозяйственная академия.
5. Стрижаков, А. Н. Физиология и патология послеродового периода / А. Н. Стрижаков, О.Р. Баев, Т.Г. Старкова, М.В. Рыбин. - М.: Династия, 2004. - 114 с.
6. Филатов, А. В. Сократительная деятельность матки при применении препаратов "Эндометрамаг" содержащих пропранолол гидрохлорид / А. В. Филатов, А. В. Минин, В. П. Хлопицкий // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2019. – № 3. – С. 120-122. 12.
7. Филатов, А. В. Анализ эффективности супрафизиологических доз окситоцина на свиноматок и состояние поросят / А. В. Филатов, А. В. Минин // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2022. – № 4(21). – С. 74-82. – DOI 10.17238/issn2541-8203.2022.4.74.
8. Farmer C., Lessard M., Knight C. H., Quesnel H. Oxytocin injections in the postpartal period affect mammary tight junctions in sows, Journal of Animal Science, Volume 95, Issue 8, August 2017, Pages 3532–3539, https://doi.org/10.2527/jas.2017.1700
9. Mota-Rojas D. et al. Comparative routes of oxytocin administration in crated farrowing sows and its effects on fetal and postnatal asphyxia //Animal Reproduction Science. – 2006. – Т. 92. – №. 1-2. – С. 123-143. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.04.012.
10. Wasowicz, K.; Majewski, M.; Lakomy, M. Distribution of neurons innervating the uterus of the pig. J. Auton. Nerv. Syst. 1998, 74, 13–22. https://doi.org/10.1016/S0165-1838(98)00112-X.

REFERENCES

1. Abramchenko VV. Postpartum endometritis and uterine subinvolution. St. Petersburg, 2008. - 228s.
2. Antimicrobial and uterotonic activity of the complex preparation Metramag®-15 in postpartum and gynecological diseases of sows / V. P. Khlopitsky, A.V. Filatov, L. M. Ushakova, M. A. Azyamov // Veterinary medicine. – 2019. – No. 1. – pp. 10-15.
3. Minin, A.V. The effectiveness of using high doses of oxytocin to highly productive sows in the postpartum period / A.V. Minin, A.V. Filatov // Pig breeding. – 2022. – No. 7. – pp. 35-37. – DOI 10.37925/0039-713X-

2022-7-35-37.
4. Utility model Patent No. 27478 U1 Russian Federation, IPC A61D 7/00. Device for hysterography: No. 2002109668/20: application 11.04.2002 : publ. 10.02.2003 / I. G. Konopeltsev, N. V. Pletenev, S. V. Surkov [et al.] ; applicant Vyatka State Agricultural Academy.
5. Strizhakov, A. N. Physiology and pathology of the postpartum period / A. N. Strizhakov, O.R. Baev, T.G. Starkova, M.V. Rybin. - M.: Dynasty, 2004. - 114 p. 6. Filatov, A.V. Contractile activity of the uterus when using Endometramag preparations containing propranolol hydrochloride / A. V. Filatov, A.V. Minin, V. P. Khlopitsky // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. – 2019. – No. 3. – pp. 120-122. 12.
7. Filatov, A.V. Analysis of the effectiveness of supraphysiological doses of oxytocin on sows and the condition of piglets / A.V. Filatov, A.V. Minin // Veterinary Pharmacological Bulletin. – 2022. – № 4(21). – Pp. 74-82. – DOI 10.17238/issn2541-8203.2022.4.74.
8. Farmer S., Lessard M., Knight S. H., Quesnel H. Oxytocin injections in the postpartum period affect the tight junctions of mammary glands in sows, Journal of Animal Science, Volume 95, issue 8, August 2017, Pages 3532-3539, https://doi.org/10.2527/jas.2017.1700
9. Mota-Rojas D. et al. Comparative methods of oxytocin administration to sows during farrowing in cages and its effect on intrauterine asphyxia and postpartum //The science of animal reproduction. - 2006. – Vol. 92. – no. 1-2. – pp. 123-143. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.04.012 .
10. Vasovich, K.; Mayevsky, M.; Lakomy, M. Distribution of neurons innervating the uterus of a pig. J. Auton. Nerve. System. 1998, 74, 13-22. https://doi.org/10.1016/S0165-1838 (98)00112-X.

УДК: 616.36-07:619
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.179

ЭЛИМИНАЦИЯ 1,3,7-ТРИМЕТИЛ-КСАНТИНА У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ИНДУЦИРОВАНИИ ЖИРОВОГО ГЕПАТОЗА

Попова О.С. * – канд. ветеринар. наук, доц. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-0650-0837); **Понамарев В.С.** – канд. ветеринар. наук, ст. преп. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-6852-3110); **Кострова А.В.** – асп. каф. фармакологии и токсикологии; **Агафонова Л.А.** – соиск. каф. фармакологии и токсикологии.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*alef_z@mail.ru

Ключевые слова: *гепатобилиарная система, клиренс-тест, кофеин, крысы, диагностика, фармакокинетика.*

Keywords: *hepatobiliary system, clearance test, caffeine, rats, diagnostics, pharmacokinetics.*

Благодарности: *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00011, https://rscf.ru/project/23-26-00011*

Поступила: 16.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Патологии печени играют значительную роль в изменении метаболизма и клиренса ряда фармакологически активных веществ, включая 1,3,7-триметилксантин, что объясняется их влиянием на ферментные системы, регулирующие биотрансформацию экзогенных биологически активных веществ. В настоящее время активно изучается изменение клиренса кофеина при различных гепатобилиарных нарушениях, особенно тех, которые носят хронический характер, так как именно подобные патологии, по мнению ряда исследователей, характеризуются наиболее прогнозируемым и стабильным изменением триметилксантинового фармакокинетического профиля. Цель исследования – определение изменения уровней кофеина в сыворотке крови при индуцировании жирового гепатоза у лабораторных животных (крыс). Исследования проводили в виварии кафедры фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ. Для исследования были выбраны лабораторные животные из предыдущей серии эксперимента с целью дальнейшего сравнения «кофеиновых кривых». Жировой гепатоз моделировали с использованием сернокислого стронция согласно разработанной на кафедре фармакологии и токсикологии методике. По завершению индуцирования жировой гепатоз был подтверждён на основании клинико-биохимических признаков. На основании проведенных исследований можно сделать вывод, что присутствуют определенные корреляции. Например, при жировом гепатозе элиминация кофеина не значительно замедлена с характерным длительном плато (до 8 часов после введения), переходящее в плавное снижение концентрации. Данные эксперимента можно использовать для создания базы данных по оценке взаимосвязи фарма-

кокинетики и физиологического состояния животных. Подобные эксперименты необходимо проводить и на других видах животных, что создаст целостную картину и поможет в оценке патологий для ветеринарных специалистов.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Патологии печени играют значительную роль в изменении метаболизма и клиренса ряда фармакологически активных веществ, включая 1,3,7-триметилксантин, что объясняется их влиянием на ферментные системы, регулирующие биотрансформацию экзогенных биологически активных веществ. Некоторые из ферментов могут быть угнетены или наоборот, активированы, что приводит к биотрансформационному дисбалансу, что может вызывать не только накопление 1,3,7-триметил-ксантина в организме, но и изменение его фармакологического профиля, включая время задержки в организме и интенсивность его элиминации [1,2,3].

В настоящее время активно изучается изменение клиренса кофеина при различных гепатобилиарных нарушениях, особенно тех, которые носят хронический характер, так как именно подобные патологии, по мнению ряда исследователей, характеризуются наиболее прогнозируемым и стабильным изменением триметилксантинового фармакокинетического профиля [2-4].

Однако не все исследования подтверждают однозначное влияние жирового гепатоза на клиренс кофеина. Некоторые исследования показывают, что снижение активности ферментов в печени может приводить к уменьшению метаболического клиренса кофеина, тогда как другие не находят статистически значимой связи между этими двумя факторами [5,6].

Резюмируя вышеописанное, можно сделать вывод, что увеличение количества подобных экспериментов будет способствовать лучшему пониманию изменений в элиминации кофеина при подобных патологиях [7,8].

Цель исследования - определение изменения уровней кофеина в сыворотке крови при индуцировании жирового гепатоза у лабораторных животных (крыс).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводили в виварии кафедры фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ. Для эксперимента были выбраны лабораторные животные из предыдущей серии опыта с целью дальнейшего сравнения «кофеиновых кривых». Количество животных, их возрастные характеристики, живая масса, условия кормления и содержания были эквивалентны предыдущим опытам [9].

Жировой гепатоз моделировали с использованием сернокислого стронция согласно разработанной на кафедре фармакологии и токсикологии методике [10]. По завершению индуцирования жировой гепатоз был подтверждён на основании клинико-биохимических признаков [11].

Исследования были проведены в соответствии принципами Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей, правилами надлежащей лабораторной и клинической (GLP и GCP) практики, а также требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях [12,13]. Дизайн исследования одобрен комиссией по биоэтике ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

Спустя сутки после завершения моделирования жирового гепатоза у подопытных животных определялись уровни кофеина в сыворотке крови в полном соответствии с предыдущей серией опыта [9].

Математико-статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы STATISTICA 6.1. Рассчитывали среднюю арифметическую (M) и ее среднюю ошибку (m), расчет достоверности разницы (p) по критерию Стьюдента не проводился в связи с поисковым характером исследования и отсутствием групп сравнения [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате эксперимента патологических реакций на введение препарата со стороны сердечно-сосудистой системы отмечено не было, токсическое действие препарата не проявлялось (данные получены с помощью прибора Физиобелт) [9]. Уровни кофеина в плазме крови представлены в таблице 1.

После проведения анализа полученных данных, мы пришли к выводу, что между биотрансформацией кофеина у самцов и самок отсутствует какая-либо взаимосвязь. Подопытные животные, в целом, имели более высокие уровни кофеина в сыворотке крови по сравнению с животными без патологии. Кроме того, временной интервал полной элиминации кофеина не входил в исследуемый временной диапазон.

Для установления закономерностей в элиминации кофеина были построены графики изменения его уровней (рис.1).

При введении животных экзогенного кофеина во всех исследуемых дозировках отмечались следующие особенности биотрансформации кофеина: длительное плато (до 8 часов после введения), переходящее в плавное снижение концентрации.

Несмотря на статистически достоверную задержку кофеина в сыворотке крови, был сохранён его фармакокинетический профиль в отношении его элиминации посредством кинетики первого порядка. Кинетика первого порядка подразумевает, что выведение вещества из организма пропорционально его введению в течение определенного времени, а изменение дозировки препарата приводит к соответствующему изменению его концентрации в сыворотке крови в линейной зависимости.

Таблица 1 – Уровень кофеина в плазме крови (в мкг) после введения экзогенного кофеина у подопытных крыс с индуцированным жировым гепатозом (n=6)

Вводимая дозировка препарата (в пересчете на чистый кофеин	**50 мг/кг**		**100 мг/кг**		**150 мг/кг**	
Т после введения / пол животных	♂	♀	♂	♀	♂	♀
30 мин	28,6±0,4	27,3±0,5	73,4±2,8	72,6±3,2	120,1±6,3	122,3±7,5
1 час	27,3±0,5	27,6±0,3	72,6±2,2	71,3±3,5	121,7±5,1	124,8±6,4
2 часа	27,4±0,6	27,1±0,7	73,1±3,7	71,1±2,9	120,5±5,7	123,7±4,1
4 часа	27,7±0,3	26,9±0,3	72,3±2,9	70,7±4,3	119,6±4,8	122,6±5,8
8 часов	23,5±0,7	22,8±0,6	69,2±4,2	68,4±2,0	109,3±6,1	111,5±5,3
12 часов	19,3±0,9	19,1±0,5	61,3±4,7	58,2±3,6	98,3±5,5	103,2±6,6

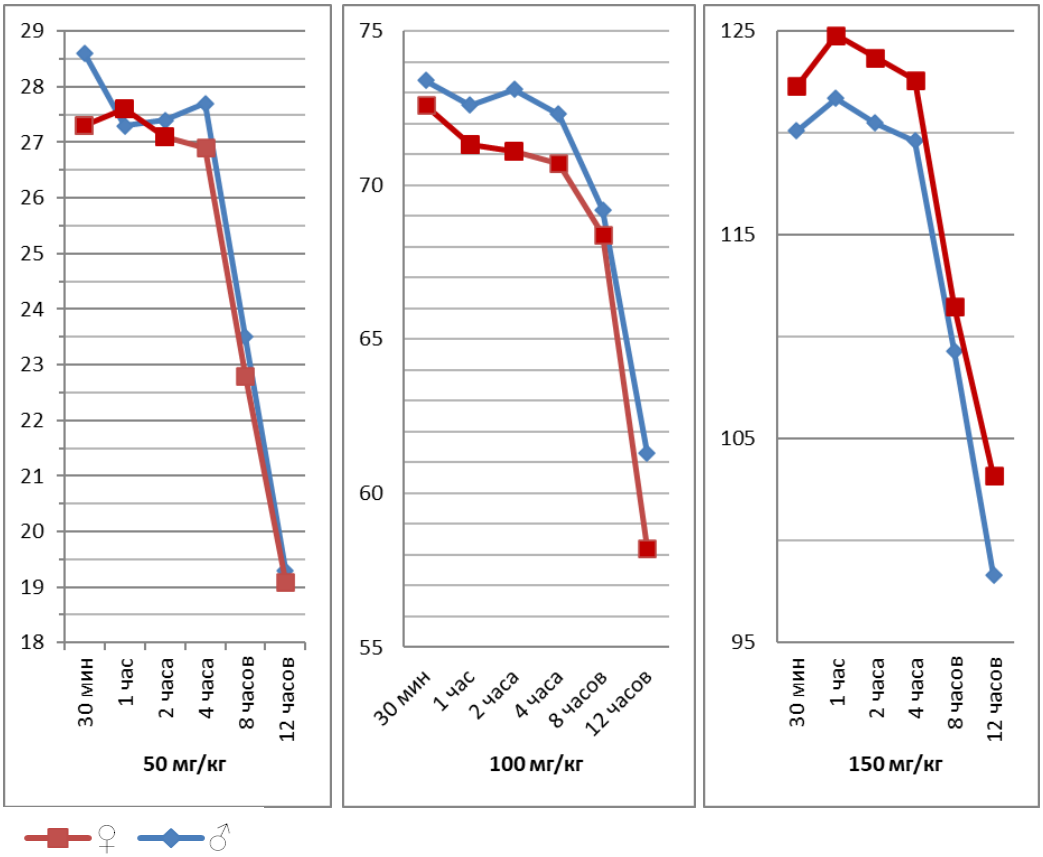


Рисунок 1 – Уровень кофеина в плазме крови (в мкг) после введения экзогенного кофеина в дозе 50,100 и 150мг/кг у подопытных крыс с индуцированным жировым гепатозом (n=6)

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Так нами были исследованы лабораторные животные из предыдущей серии эксперимента с целью сравнения «кофеиновых кривых» при жировом гепатозе. На основании проведенных исследований можно сделать вывод, что присутствуют определенные корреляции. Так, при жировом гепатозе элиминация кофеина не значительно замедлена с характерным длительном плато (до 8 часов после введения), переходящее в плавное снижение концентрации.

Данные эксперимента можно использовать для создания базы данных по оценке взаимосвязи фармакокинетики и физиологического состояния животных. Подобные эксперименты необходимо проводить и на других видах животных, что создаст целостную картину и поможет в оценке патологий для ветеринарных специалистов.

ELIMINATION OF 1,3,7-TRIMETHYL-XANTHINE IN LABORATORY ANIMALS WHEN INDUCING FATTY HEPATOSIS

Popova O.S. * – Ph.D. of Veterinary Science, Associate Professor Pharmacology and Toxicology (ORCID 0000-0002-0650-0837), **Ponamarev V.S.** – Ph.D. (ORCID 0000-0002-6852-3110) – Senior Lecturer, Ph.D. of Veterinary Science, **Kostrova A.V.** – graduate student, **Agafonova L.A.** – student

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine
*alef_z@mail.ru

Acknowledgments: *The study was supported by the Russian Science Foundation grant № 23-26-00011, https://rscf.ru/project/23-26-00011.*

ABSTRACT

Liver pathologies play a significant role in changing the metabolism and clearance of a number of pharmacologically active substances, including 1,3,7-trimethylxanthine, which is explained by their influence on enzyme systems that regulate the biotransformation of exogenous biologically active substances. Currently, changes in caffeine clearance are being actively studied in various hepatobiliary disorders, especially those that are chronic, since it is precisely such pathologies, according to a number of researchers, that are characterized by the most predictable and stable change in the trimethylxanthine pharmacokinetic profile. The purpose of the study was to determine changes in serum caffeine levels when inducing fatty liver disease in laboratory animals (rats). The studies were carried out in the vivarium of the Department of Pharmacology and Toxicology of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education of St. Petersburg State University of Medicine. Laboratory animals from a previous series of experiments were selected for the study in order to further compare the "caffeine curves." Fatty hepatosis was modeled using strontium sulfate according to the methodology developed at the Department of Pharmacology and Toxicology. Upon completion of induction, fatty hepatosis was confirmed based on clinical and biochemical signs. Based on the studies conducted, we can conclude that there are certain correlations. For example, in fatty hepatosis, the elimination of caffeine is not significantly slowed down with a characteristic long plateau (up to 8 hours after administration), turning into a smooth decrease in concentration. Experimental data can be used to create a database to assess the relationship between pharmacokinetics and the physiological state of animals. Similar experiments need to be carried out on other animal species, which will create a holistic picture and help in assessing pathologies for veterinary specialists.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Lebeau, P.F. Caffeine blocks SREBP2-induced hepatic PCSK9 expression to enhance LDLR-mediated cholesterol clearance / P. F. Lebeau, J. H. Byun, K. Platko [et al.] // Nature Communications. – 2022. – Vol. 13, No. 1. – DOI 10.1038/s41467-022-28240-9.

2.Duthaler, U. Liver Cirrhosis Affects the Pharmacokinetics of the Six Substrates of the Basel Phenotyping Cocktail Differently / U. Duthaler, F. Bachmann, C. Suenderhauf [et al.] // Clinical Pharmacokinetics. – 2022. – Vol. 61, No. 7. – P. 1039-1055. – DOI 10.1007/s40262-022-01119-0.

3.Abduljalil, Kh. Preterm Physiologically Based Pharmacokinetic Model. Part II: Applications of the Model to Predict Drug Pharmacokinetics in the Preterm Population / Kh. Abduljalil, X. Pan, A. Pansari [et al.] // Clinical Pharmacokinetics. – 2020. – Vol. 59, No. 4. – P. 501-518. – DOI 10.1007/s40262-019-00827-4.

4.Nehlig, A. Interindividual differences in caffeine metabolism and factors driving caffeine consumption / A. Nehlig // Pharmacological Reviews. – 2018. – Vol. 70, No. 2. – P. 384-411. – DOI 10.1124/pr.117.014407.

5.Gajewska, M. In vitro-to-in vivo correlation of the skin penetration, liver clearance and hepatotoxicity of caffeine / M. Gajewska, A. Paini, J. V. Sala Benito [et al.] // Food and Chemical Toxicology. – 2015. – Vol. 75. – P. 39-49. – DOI 10.1016/j.fct.2014.10.017.

6.Martín, A. Caffeine: Forms of consumption, toxicity, therapeutic effects and their use in medicine / A. Martín, M. Iturbe, A. Quintano [et al.] // Caffeine: Consumption, Side Effects and Impact on Performance and Mood, 2014. – P. 35-88.

7.Tangkuvanich, P. Caffeine clearance study in hepatocellular carcinoma / P. Tangkuvanich, S. Wittayalertpanya, T. Ku-

sonsolboon [et al.] // Journal of the Medical Association of Thailand. – 1999. – Vol. 82, No. 3. – P. 297-303.
8.Falcão, A.C. Population pharmacokinetics of caffeine in premature neonates / A. C. Falcão, M. M. F. De Gatta, M. F. D. Iribarnegaray [et al.] // European Journal of Clinical Pharmacology. – 1997. – Vol. 52, No. 3. – P. 211-217. – DOI 10.1007/s002280050276.
9.Попова, О.С. Фармакокинетические параметры кофеина у лабораторных животных в контексте оценки функционального состояния печени / О. С. Попова, В. С. Понамарев, А. В. Кострова, Л. А. Агафонова // Международный вестник ветеринарии. – 2023. – № 2. – С. 142-149. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.2.142.
10.Патент № 2766772 C1 Российская Федерация, МПК G09B 23/28, A61P 1/16. Способ моделирования жировой дистрофии печени с использованием сернокислого стронция: № 2021113112: заявл. 05.05.2021 : опубл. 15.03.2022 / В. С. Понамарев, А. М. Лунегов, В. А. Барышев, К. Ф. Зенков; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины.
11. Биохимия печени и лабораторная оценка ее физиолого-биохимического состояния: учебно-методическое пособие / О. С. Белоновская, А. А. Лисицына, Л. Ю. Карпенко, А. А. Бахта. – СанктПетербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2014. – 116 с.
12.Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.). Доступно по: https://rm.coe.int/168007 a6a8. Ссылка активна на 27 октября 2023 г.
13.Директива 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях. Доступно по: https://eurlex.europa. eu/ LexUriServ/LexUriServ.do?
uri=OJ:L:2010:276:0033:007 9:en:PDF. Ссылка активна на 27 октября 2023 г.
14.Понятие и значение критерия Стьюдента в клинической медицине / М. А. Полиданов, И. С. Блохин, А. А. Скороход [и др.] // Modern Science. – 2020. – № 2-1. – С. 227-230.

REFERENCES

1. Lebeau, P.F. Caffeine blocks SREBP2-induced hepatic PCSK9 expression to enhance LDLR-mediated cholesterol clearance / P. F. Lebeau, J. H. Byun, K. Platko [et al.] // Nature Communications. – 2022. – Vol. 13, No. 1. – DOI 10.1038/s41467-022-28240-9.
2. Duthaler, U. Liver Cirrhosis Affects the Pharmacokinetics of the Six Substrates of the Basel Phenotyping Cocktail Differently / U. Duthaler, F. Bachmann, C. Suenderhauf [et al.] // Clinical Pharmacokinetics. – 2022. – Vol. 61, No. 7. – P. 1039-1055. – DOI 10.1007/s40262-022-01119-0.
3. Abduljalil, Kh. Preterm Physiologically Based Pharmacokinetic Model. Part II: Applications of the Model to Predict Drug Pharmacokinetics in the Preterm Population / Kh. Abduljalil, X. Pan, A. Pansari [et al.] // Clinical Pharmacokinetics. – 2020. – Vol. 59, No. 4. – P. 501-518. – DOI 10.1007/s40262-019-00827-4.
4. Nehlig, A. Interindividual differences in caffeine metabolism and factors driving caffeine consumption / A. Nehlig // Pharmacological Reviews. – 2018. – Vol. 70, No. 2. – P. 384-411. – DOI 10.1124/pr.117.014407.
5. Gajewska, M. In vitro-to-in vivo correlation of the skin penetration, liver clearance and hepatotoxicity of caffeine / M. Gajewska, A. Paini, J. V. Sala Benito [et al.] // Food and Chemical Toxicology. – 2015. – Vol. 75. – P. 39-49. – DOI 10.1016/j.fct.2014.10.017.
6. Martín, A. Caffeine: Forms of consumption, toxicity, therapeutic effects and their use in medicine / A. Martín, M. Iturbe, A. Quintano [et al.] // Caffeine: Consumption, Side Effects and Impact on Performance and Mood, 2014. – P. 35-88.
7. Tangkuvanich, P. Caffeine clearance study in hepatocellular carcinoma / P. Tangkuvanich, S. Wittayalertpanya, T. Ku-

sonsolboon [et al.] // Journal of the Medical Association of Thailand. – 1999. – Vol. 82, No. 3. – P. 297-303.
8. Falcão, A.C. Population pharmacokinetics of caffeine in premature neonates / A. C. Falcão, M. M. F. De Gatta, M. F. D. Iribarnegaray [et al.] // European Journal of Clinical Pharmacology. – 1997. – Vol. 52, No. 3. – P. 211-217. – DOI 10.1007/ s002280050276.
9. Popova, O.S. Pharmacokinetic parameters of caffeine in laboratory animals in the context of assessing the functional state of the liver / O. S. Popova, V. S. Ponamarev, A. V. Kostrova, L. A. Agafonova // International Veterinary Bulletin. – 2023. – No. 2. – P. 142-149. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.2.142.
10. Patent No. 2766772 C1 Russian Federation, IPC G09B 23/28, A61P 1/16. Method for modeling fatty liver using strontium sulfate: No. 2021113112: application. 05.05.2021: publ. 03.15.2022 / V. S. Ponamarev, A. M. Lunegov, V. A. Baryshev, K. F. Zenkov; applicant Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education St. Petersburg State University of Veterinary Medicine.
11. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental or Other Scientific Purposes (Strasbourg, 18 March 1986). Available from: https://rm.coe.int/168007 a6a8. Link active as of October 27, 2023
12. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Available from: https://eurlex.europa. eu/LexUriServ/ LexUriServ.do? uri=OJ: L: 2010:276:0033:007 9: en: PDF. Link active as of October 27, 2023
13. Biochemistry of the liver and laboratory assessment of its physiological and biochemical state: educational manual / O. S. Belonovskaya, A. A. Lisitsyna, L. Yu. Karpenko, A. A. Bakhta. – St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2014. – 116 p.
14. The concept and significance of Student's criterion in clinical medicine / M. A. Polidanov, I. S. Blokhin, A. A. Skorokhod [etc.] // Modern Science. – 2020. – No. 2-1. – pp. 227-230.

УДК 616-036.8:615.284:616.995.1:636.7
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.186

АНТИГЕЛЬМИНТНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА ЭКСПРЕССТАБС ПРИ ГЕЛЬМНИТОЗАХ СОБАК

Токарев А.Н.* – д-р. ветеринар. наук, доц., зав. каф. ветеринарно-санитарной экспертизы (ORCID 0000-0002-7117-306X); **Токарева О.А. –** канд. ветеринар. наук, доц. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-5941-9506).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины

*tokarev.an@yahoo.com

Ключевые слова: *спиносад, празиквантел, моксидектин, токсокароз, токсаскариоз, собаки*
Key words: *spinosad, praziquantel, moxidectin, toxocarosis, toxascariosis, dogs.*

Поступила: 13.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Проблема гельминтозов собак всегда имела важное значение, т.к. данные болезни широко распространены. Целью исследований – изучить эффективность лекарственного препарата ЭкспрессТабс при гельминтозах собак. Препарат в качестве действующих веществ содержит спиносад, празиквантел и моксидектин. Для опытов были отобраны животные смешанных пород обоих полов в возрасте от 7 месяцев до 2 лет. Были сформированы опытные и контрольные группы собак, больных токсокарозом, токсаскариозом и дипилидиозом. Препарат ЭкспрессТабс применяли собакам индивидуально, однократно, перорально в смеси с кормом или сразу после кормления (на корень языка или с лакомством) в минимальной дозе 30 мг спиносада, 0,2 мг моксидектина и 5 мг празиквантела на 1 кг массы животного. Животным контрольных групп таблетки не давали. Контрольный осмотр в случае с дипилидиозом проводился на второй день, далее, если животное продолжало оставаться в стационаре, раз в неделю. При токсокарозе и токсаскариозе исследование фекалий проводили на 7 день, далее - на 14, 21 и 28 день. Препарат препарат ЭкспрессТабс показал высокую (100%) эффективность при лечении собак, больных токсокарозом, токсакскариозом и дипилидиозом. У одного животного наблюдалось повторное заражение токсокарозом, так как на 28 день в контрольном исследовании снова были обнаружены яйца гельминтов. Учитывая цикл развития паразитов, очевидно, что перезаражение произошло не позднее, чем через неделю после проведения опытной дегельминтизации препаратом ЭкспрессТабс. В рекомендованных дозах препарат не вызвал нежелательных побочных эффектов.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Проблема гельминтозов собак всегда имела важное значение, т.к. данные болезни широко распространены. В тоже время длительное применение препаратов с одними и теми же действующими веществами или их композициями приводит к снижению эффективности лекарственных средств. Данные обстоятельства заставляют производителей разрабатывать и внедрять в практику новые антигельминтики [2,5].

Компания «Агроветзащита» разработала новый противопаразитарный препарат ЭкспрессТабс [1,3,4], который в качестве действующих веществ содержит спиносад, празиквантел и моксидектин.

ЭкспрессТабс был предложен к выпуску в 4 модификациях в виде таблеток. Модификации и состав представлены в таблице 1.Целью исследований – изучить эффективность лекарственного препарата ЭкспрессТабс при гельминтозах собак.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводили на базе ветеринарной клиники «Энимал Центр» (Санкт-Петербург). Для опытов были отобраны собаки смешанных пород обоих полов в возрасте от 7 месяцев до 2 лет. Содержание животных осуществлялось в индивидуальных боксах или клетках. Все животные, участвующие в опытах, в день поступления обследовались.

Для обнаружения гельминтов от всех животных были отобраны фекалии и исследованы методом Дарлинга. Также был произведён осмотр с целью обнаружения члеников D. caninum на шерсти в области вокруг ануса. В случае обнаружения члеников их помещали между предметным и покровным стёклами, заливали глицерином и в дальнейшем исследовали под микроскопом.

После обнаружения паразитов животные отбирались для опыта. Были сформированы опытные и контрольные группы собак, больных токсокарозом, токсаскариозом и дипилидиозом (таблица 2).

Препарат ЭкспрессТабс применяли собакам индивидуально, однократно, перорально в смеси с кормом или сразу после кормления (на корень языка или с лакомством) в минимальной дозе 30 мг спиносада, 0,2 мг моксидектина и 5 мг празиквантела на 1 кг массы животного. Животным контрольных групп таблетки не давали [4].

Таблица 1 – Модификации и состав лекарственного препарата Экспресс Табс [4]

Модификация таблеток (1 шт)	Спиносад	Празиквантел	Моксидектин
Для собак до 2,5 кг	75 мг	12,5 мг	0,5 мг
Для собак от 2,5 до 5 кг	150 мг	25 мг	1 мг
Для собак от 5 до 15 кг	300 мг	50 мг	2 мг
Для собак от 15 до 30 кг	900 мг	150 мг	6 мг

Таблица 2 – Распределение собак в опытных и контрольных группах

Болезнь	Опытные группы, количество собак	Контрольные группы, количество собак
токсокароз	10	10
токсаскариоз	10	10
дипилидиоз	10	10

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

При токсокарозе и токсаскариозе собак препарат ЭкспрессТабс показал 100% терапевтическую эффективность, так как у собак подопытных групп через неделю после обработки в фекалиях не обнаруживались яйца гельминтов. Также яйца не находили ни в один из контрольных анализов на 14 и 21 дни. У одного животного через 28 дней после применения препарата при проведении последнего контрольного анализа были снова обнаружены яйца *Toxocara*. Животные контрольных групп на всем протяжении опыта оставались больными, о чем свидетельствовало наличие яиц токсокар и токсаскарисов в фекалиях.

При изучении противопаразитарной активности препарата ЭкспрессТабс при дипиллидиозе собак были получены следующие результаты. У всех животных подопытной группы через неделю после обработки, а также на 14, 21 и 28 день после нее, в фекалиях не обнаруживались яйца дипилидиумов и не наблюдалось выхода члеников из анального отверстия.

Животные контрольных групп на всем протяжении опыта оставались зараженными возбудителем дипилидиоза, о чем свидетельствовало наличие яиц дипилидиумов и нахождение члеников гельминта на шерсти вокруг ануса.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Препарат препарат ЭкспрессТабс, заданный собакам индивидуально, однократно, перорально (внутрь) в смеси с кормом или сразу после кормления (на корень языка или с лакомством) в минимальной дозе 30 мг спиносада, 0,2 мг моксидектина и 5 мг празиквантела на 1 кг массы животного, показал высокую (100%) эффективность при лечении собак, больных токсокарозом, токсакскариозом и дипилидиозом.

При всех контрольных исследованиях фекалий, взятых у животных подопытных групп на 14 и 21 день, яйца и членики гельминтов не были обнаружены. У одного животного наблюдалось повторное заражение токсокарозом, так как на 28 день в контрольном исследовании снова были обнаружены яйца гельминтов. Учитывая цикл развития паразитов, очевидно, что перезаражение произошло не позднее, чем через неделю после проведения опытной дегельминтизации препаратом ЭкспрессТабс.

В рекомендованных дозах препарат не вызвал нежелательных побочных эффектов.

ANTHELMINTIC EFFICACY OF THE DRUG EXPRESSTABS TESTED ON DOGS INFECTED WITH HELMINTHS

Tokarev A.N. – Dr. habil of Veterinary Sciences, Docent (ORCID 0000-0002-7117-306X); **Tokareva O.A.**, Ph.D. of Veterinary Sciences, Docent, (ORCID 0000-0002-5941-9506).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, Russia

*tokarev.an@yahoo.com

ABSTRACT

The purpose of the research is to study the effectiveness of the drug ExpressTabs tested on dogs infected with helminths. The drug contains spinosad, praziquantel and moxidectin as active ingredients. Animals of mixed breeds of both sexes aged from 7 months to 2 years were selected for the experiments. Experimental and control groups of dogs with toxocariasis, toxascariasis and dipylidiasis were formed. ExpressTabs was administered to dogs individually, once, orally in a mixture with food or immediately after feeding (on the root of the tongue or with a treat) in a minimum dose of 30 mg of spinosad, 0.2 mg of moxidectin and 5 mg of praziquantel per 1 kg of animal weight. Animals in the control groups were not given tablets. A control examination in the case of dipylidiasis was carried out on the second day then if the animal continued to remain in the hospital once a week. For toxocariasis and toxascariasis fecal examination was carried out on day 7 then on days 14, 21 and 28. The drug ExpressTabs showed high (100%) effectiveness in the treatment of dogs with toxocariasis, toxaccariasis and dipylidiasis. In one animal re-infection with toxocariasis

was observed because helminth eggs were again detected on day 28 in the control study. Taking into account the development cycle of parasites it is obvious that re-infection occurred no later than a week after the experimental deworming with ExpressTabs. At recommended doses the drug did not cause unwanted side effects.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Енгашев, С.В. Исследование переносимости лекарственного препарата ЭкспрессТабс для собак / С.В. Енгашев; Е.С. Енгашева, Д.Д. Новиков, А.М. Никанорова, А.В. Мироненко // Российский ветеринарный журнал. — 2023. — № 1 — С. 29-33. https://elibrary.ru/item.asp?id=50510621

2.Забровская, А.В. Устойчивость гельминтов к антигельминтикам: механизм, методы детекции, способы предотвращения резистентности / А.В. Забровская, Л.М. Белова, Н.А. Гаврилова // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2023. – № 2 (58). – С. 42-48. https://elibrary.ru/item.asp?id=54011501

3.Слободяник, Р.В. Изучение терапевтической эффективности препарата «Оквет табс экспресс для собак» / Р.В. Слободяник, С.С. Зыкова, А.М. Лунегов, О.В. Щербаков, Е.С. Енгашева // Международный вестник ветеринарии. – 2023. – № 1. – С. 64-70. https://elibrary.ru/item.asp?id=53974048

4.Токарев, А.Н. Инсектоакарицидная эффективность лекарственного препарата ЭкспрессТабс® при эктопаразитозах собак/ А.Н. Токарев, О.А. Токарева, М.В. Проскурякова // Ветеринарный Петербург. – 2023. – № 3. – С.44-45.

5.Храмченкова, М.В. Паразитозы собак и кошек в летний период в г. Санкт-Петербург. В сборнике: 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 / Храмченкова М.В., Белова Л.М. – СПб: СПбГУВМ. –2021. – С. 381-382. https://elibrary.ru/item.asp?id=47578279

REFERENCES

1.Engashev S.V. Study of tolerability of the drug ExpressTabs for dogs / S.V. Yengashev; E.S. Engasheva, D.D. Novikov, A.M. Nikanorova, A.V. Mironenko // Russian Veterinary Journal. - 2023. - No. 1 - P. 29-33. https://elibrary.ru/item.asp?id=50510621

2.Zabrovskaya A.V. Resistance of helminths to anthelmintics: mechanism, detection methods, methods of preventing resistance / A.V. Zabrovskaya, L.M. Belova, N.A. Gavrilova // Current issues in veterinary biology. – 2023. – No. 2 (58). – pp. 42-48. https://elibrary.ru/item.asp?id=54011501

3.Slobodyanik R.V. Study of the therapeutic effectiveness of the drug “Okvet Tabs Express for dogs” / R.V. Slobodyanik, S.S. Zykova, A.M. Lunegov, O.V. Shcherbakov, E.S. Engasheva // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2023. – No. 1. – P. 64-70. https://elibrary.ru/item.asp?id=53974048

4.Tokarev A.N. Insectoacaricidal effectiveness of the drug ExpressTabs® against ectoparasitosis of dogs / A.N. Tokarev, O.A. Tokareva, M.V. Proskuryakova // Veterinary Petersburg. – 2023. – No. 3. – P.44-45.

5.Khramchenkova M.V. Parasitosis of dogs and cats in the summer in St. Petersburg. In the collection: Knowledge of young people for the development of veterinary medicine and the country's agro-industrial complex. Materials of the X Anniversary International Scientific Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists, dedicated to the Year of Science and Technology / Khramchenkova M.V., Belova L.M. – SPb: SPbGUVM. –2021. – pp. 381-382. https://elibrary.ru/item.asp?id=47578279

ЗООГИГИЕНА, САНИТАРИЯ, КОРМЛЕНИЕ

УДК: 577.115:636.087.7:577.161.1:636.2
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.190

ВЛИЯНИЕ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ НА ОБЕСПЕЧЕННОСТЬ ОРГАНИЗМА КОРОВ ВИТАМИНОМ А И КАРОТИНОМ

Хоменко Р.М. * – канд. ветеринар. наук, доц. каф. ветеринарной гигиены и радиобиологии (ORCID 0000-0002-9817-1400); **Александров В.В.** – канд. ветеринар. наук, доц. каф. ветеринарной гигиены и радиобиологии (ORCID 0009-0006-1406-6678); **Сафронов С.Л.** – д-р с.-х. наук, доц. каф. кормления и разведения животных (ORCID 0000-0002-5478-9698).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
*roman.khomenko@gmail.com

***Ключевые слова**: крупный рогатый скот, кормление, липосомальные добавки, витаминная питательность, каротин.*
***Keywords**: cattle, feeding, liposomal supplements, vitamin nutrition, carotene.*

Поступила: 02.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

В условиях промышленного производства молока важным является обеспечение крупного рогатого скота полноценным кормлением, включающем все необходимые питательные вещества для удовлетворения потребностей лактирующей коровы. Интенсивные обменные процессы и напряженная деятельность всего организма коровы в период лактации являются предпосылкой к увеличению потребности их в витаминах. В настоящее время в кормлении дойных коров используют разные кормовые добавки и премиксы, которые обогащают рацион животных необходимыми витаминами, но их продуктивное действие носит противоречивый характер. В проведенных исследованиях установлено положительное влияние липосомальной добавки «ЛипоКар» на обеспеченность организма коров в период лактации β-каротином и витамином А. Внесение в основной рацион кормовой добавки «ЛипоКар» в количестве 6 г/гол/сут. способствует нормализации А-витаминного питания коров особенно в транзитный период. Это подтверждается результатами исследований сыворотки крови коров до и после использования кормовой добавки «ЛипоКар». В контрольной группе содержание витамина А в сыворотке крови коров было в 2,4 раза больше и соответствовало физиологической норме, по сравнению с контрольной группой, де этот показатель не соответствовал норме. Отмечена положительная динамика содержания β-каротина в сыворотке крови коров опытной группы с увеличением показателя в конце исследования в 4,4 раза по сравнению с контрольной группой. Полученные результаты позволяют рекомендовать использование в рационах коров кормовую добавку «ЛипоКар» с первого дня после отела в количестве 6 г/гол. 1 раз в сутки в течение 30 дней для нормализации обмена веществ и повышения резистентности у лактирующих коров.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Большую роль в формировании сопротивляемости организма патогенным факторам имеют активные защитные и приспособительные реакции, которые направлены на сохранение постоянства внутренней среды организма при возможных вредных воздействиях как из внешней среды, так и при нарушениях гомеостаза. Эффективность таких реакций и, следовательно, степень резистентности к различным факторам зависит от врожденных и приобретенных индивидуальных особенностей организма [5, 7, 8, 9].

Независимо от уровня витамина А, β-каротин оказывает большое влияние на репродуктивное здоровье животных. В тонком отделе кишечника крупного рогатого скота, оленей, буйволов и птиц β-каротин не только трансформируется в витамин А, но и абсорбируется в неизменном виде, а затем резервируется в липидах различных органов и тканей. При изучении влияния β-каротина как провитамина А на состояние качества спермы быков было установлено, что обеспечение быков-производителей β-каротином приводит к улучшению качества спермы по всем показателям. В разных исследованиях установлено, что β-каротин способен не только повышать в иммунной системе защитную силу собственных интерферонов, но и общую резистентность организма. Он контролирует обновление кожного, волосяного и рогового покровов животного, которые выполняют барьерную функцию в организме, а также имеет свойства биостимулятора, который активирует в организме синтез витамина К (микрофлорой пищеварительного тракта у всех, кроме птиц), витаминов группы В (микрофлорой пищеварительного тракта), витамина С (в печени и почках, а также в тонком отделе кишечника, но только в присутствии марганца) [5, 6, 8]. Применение β-каротина при кормлении сельскохозяйственных животных и птицы позволило ряду исследователей сделать вывод о том, что β-каротин способствует росту и развитию молодняка, повышению его сохранности, снижению затрат кормов на прирост живой массы, увеличению молочной и мясной продуктивности. Компенсация А-витаминной недостаточности β-каротином в рационах молочных коров более эффективна, чем включение в рацион витамина А. Из 1 мг β-каротина у крупного рогатого скота образуется 400 МЕ витамина А [6].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHOD

Применение препарата «ЛипоКар» для исследования его влияния на обеспеченность организма витамином А и каротином у коров было изучено в одном из крупных племенных хозяйств Ленинградской области, специализирующемся на выращивании крупного рогатого скота черно-пестрой породы и производстве молока.

Используемая кормовая добавка «ЛипоКар» производится на основе липосомального β-каротина, диспергируемого в воде. Она представляет собой микрогранулированный в липидные оболочки порошок кирпично-красного цвета, внутри которого находится действующее вещество – β-каротин. В состав «ЛипоКара» входят кроме β-каротина (действующее вещество) – растительные фосфолипиды, витамин С (антиоксидант), витамин Е (антиокислитель жира), сахарная пудра (наполнитель). Защищенная форма кормовой добавки способствует максимальному усвоению действующего вещества от 96 до 98%, так как липидная оболочка родственна с липопротеидами крови, что позволяет предохранить от разрушения действующее вещество при его транспортировке в разные органы и ткани сельскохозяйственных животных.

Исследование было проведено на маточном поголовье черно-пестрой породы в возрасте 7 лет (5 отелов) с живой массой 550-600 кг, со средним удоем за лактацию 6500-8800 кг молока. По принятой в хозяйстве технологии система содержания скота стойлово-выгульная, способ содержания коров – привязный. В стойловый период все поголовье коров содержалось в типовых двухрядных коровниках

по 200 голов в каждом, система поения скота автоматическая с использованием автопоилок марки АП-1, установленных из расчета одна поилка на две головы; уборка навоза производилась с помощью скребкового транспортера ТСН-2Б. Доение коров в стойлах на доильной установке АДМ-8 со сбором молока в молокопровод. Параметры микроклимата в животноводческом помещении в период проведения исследований соответствовали зоотехническим и ветеринарным нормам.

Для проведения опыта методом параналогов были сформированы контрольная и опытная группы по двадцать голов в каждой. Группы животных были отобраны в первый день после отела. Условия кормления (Таблица 1) и содержания животных в исследуемых группах были одинаковыми.

Коровы контрольной и опытной групп получали рацион (Таблица 1), который используется в племенном хозяйстве. Животные опытной группы с основным хозяйственным рационом получали кормовую добавку «ЛипоКар» с кормом с первого дня после отела в дозе 6 г/гол., 1 раз в сутки в течение 30 дней.

Были проведены исследования сыворотки крови на содержание витамина А и каротина. Биоматериал для исследований брали за 2 часа до утренней раздачи корма у животных обеих групп в 1-й и 30-й день опыта. Исследования были проведены по общепринятой методике.

Весь цифровой материал, полученный в результате исследования, был обработан статистически с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel. Полученные результаты считали достоверными при $P \leq 0,05$.

Таблица 1 – Основной ежедневный рацион коров опытной и контрольной групп

Название корма, единица изм.	Количество на 1 голову.
Сено (разнотравное) , кг	5,5
Силос (разнотравный), кг	13,8
Сенаж (разнотравный), кг	7,2
Ячмень кормовой, кг	2,45
Патока кормовая, кг	0,82
Соль поваренная (хлорид натрия), кг	0,11
Динатрий фосфат, кг	0,15

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

А-витаминную обеспеченность животных контролируют по количеству каротина и витамина А в сыворотке крови. У здоровых животных при полноценном кормлении содержание витамина А в крови поддерживается на определенном уровне, падение концентрации каротина и витамина в крови является одним из ранних признаков гиповитаминоза. Истощение запасов витамина А в организме приводит к снижению продуктивности, нарушению функции воспроизводства, яловости, абортам и рождению слабого нежизнеспособного потомства и его возможной гибели в первые дни жизни, значительному снижению содержания витамина А в молозиве, молоке и крови и как следствие снижению сопротивляемости организма к различным заболеваниям. Недостаток витамина А, также вызывает нарушение половых циклов что приводит к увеличению сервис-периода. Сравнительный анализ результатов исследований по содержанию витамина А в сыворотке крови подопытных животных представлен в таблице 2.

Таблица 2 – Изменение содержания витамина А

Группы животных	Норма	До опыта	После опыта	Разность
		В среднем по группе (мкг%)		
Контрольная	25-80	19,27±0,02	23,49±0,02	4,22
Опытная	25-80	15,01±0,04	25,09±0,05	10,08
Достоверно при $P \leq 0,05$				

Примечание: норма по И.П. Кондрахину [2].

Таблица 3 – Динамика содержания β-каротина в сыворотке крови

Группы животных	Норма	До опыта	После опыта	Разность
		В среднем по группе (мг%)		
Контрольная	0,4-1,0	0,169±0,04	0,235±0,01	0,066
Опытная	0,4-1,0	0,162±0,05	0,454±0,05	0,292
Достоверно при $P \leq 0,05$				

Примечание: норма по И.П. Кондрахину [2].

Из данных таблицы 2 видно, что в период проведения исследования содержание витамина А в обоих группах изменилось в сторону его увеличения. Однако степень изменения показателя была неодинаковой. Использование препарата «ЛипоКар» оказало значительное влияние на содержание витамина А по сравнению с контрольной группой. Увеличение в содержании витамина А в опытной группе, где коровам давали с рационом «ЛипоКар» оказалось существенно больше (в 2,4 раза), чем в контрольной и позволило довести данный показатель до нормы [2]. В контрольной группе этот показатель физиологической норме не соответствовал.

В современных условиях промышленного животноводства необходимо обеспечить высокопродуктивных животных полноценными кормами и рационами, которые содержат все необходимые питательные вещества, в том числе витамины и их производные. Так, сельскохозяйственные животные нуждаются в поступлении витамина А и его предшественников каротиноидов с кормами, причем коровы способны накапливать максимум каротина без предварительного его превращения в витамин А. Было установлено, что β-каротин, как и витамин А, выполняет роль антиоксиданта, а также может стимулировать иммунитет и репродуктивную функцию [1, 3, 4]. У животных с низким уровнем каротина в сыворотке крови в период отела количество задержаний последа значительно больше, чем у имеющих высокое содержание ка-

ротина. При недостатке в организме коров β-каротина наблюдаются нарушения беременности на 18-20-й неделе стельности, снижение жизнеспособности новорожденных телят.

В ходе исследований была установлена положительная тенденция увеличения β-каротина в сыворотке крови при использовании препарата «ЛипоКар» по сравнению с контрольной группой. Следует обратить внимание, что в контрольной группе изменение показателя за период исследования было незначительным и не достигло физиологической нормы. В опытной группе, на фоне применения исследуемого препарата содержание β-каротина в сыворотке крови в конце опыта достигло минимального значения физиологической нормы и динамика изменения была наибольшей – в 4,4 раза по сравнению с данными в контрольной группе [2]. Отмеченные изменения можно объяснить благотворным влиянием исследуемой кормовой добавки на обменные процессы в организме лактирующих коров в послеродовой период.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, проведенные исследования убедительно доказывают положительное влияние липосомальной кормовой добавки «ЛипоКар» на обеспеченность лактирующих коров в послеродовой период витамином А и каротином. Тем не менее, необходимо провести дополнительные исследования на поголовье лактирующих коров в другие производственные периоды и разной дозировкой кормовой добавки. Предварительные результаты исследований позволяют рекомендовать кормовую добавку «ЛипоКар» в количестве 6 г/гол./сут. для нормализации А-витаминного питания коров особенно в транзитный период.

THE INFLUENCE OF LIPOSOMAL FEED ADDITIVES ON THE SUPPLY OF VITAMIN A AND CAROTENE TO COWS.

Khomenko R. M. * – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of Veterinary Hygiene and Radiobiology (ORCID 0000-0002-9817-1400); **Alexandrov V. V.** – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of Veterinary Hygiene and Radiobiology (ORCID 0009-0006-1406-6678); **Safronov S. L.** – Doctor of Agricultural Sciences, Associate Professor of Animal Feeding and Breeding (ORCID 0000-0002-5478-9698).

St. Petersburg State Universitet of Veterinary Medicine

*roman.khomenko@gmail.com

ABSTRACT

In conditions of industrial milk production, it is important to provide livestock with complete feed, including all the necessary nutrients to meet the needs of a lactating cow. Active metabolic processes and intense activity of the cow's entire body during lactation are a prerequisite for increasing its need for vitamins. Currently, various feed additives and premixes are used in feeding dairy cows, enriching the animals' diet with essential vitamins, but their productive effect is contradictory. The conducted studies established the positive effect of the liposomal additive "LipoCar" on meeting the need for β-carotene and vitamin A in the body of cows during lactation. Introduction of the feed additive "LipoCar" into the main diet in the amount of 6 g/cow/day. helps normalize the vitamin nutrition of cows, especially during the transit period. This is confirmed by the results of studies of the blood serum of cows before and after the use of the LipoCar feed additive. In the control group, the content of vitamin A in the blood serum of cows was 2.4 times higher and corresponded to the physiological norm, compared to the control group, where this indicator did not correspond to the norm. There was a positive trend in the content of β-carotene in the blood serum of cows in the experimental group, with an increase of 4.4 times by the end of the study compared to the control group. The results obtained allow us to recommend the use of the LipoCar feed additive in the diets of cows from the first day after calving in an amount of 6 g/head. 1 time per day for 30 days to normalize metabolism and increase resistance in lactating cow.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Виноградова, Н. Д. Влияние некоторых факторов на продуктивное долголетие коров / Н. Д. Виноградова, Р. В. Падерина // Научное обеспечение развития АПК в условиях реформирования: сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции профессорско-преподавательского состава. – Ч. 1. – СПб-Пушкин: СПбГАУ, 2014. – С. 147-149.
2. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: Справочник/ Под ред. проф. И.П. Кондрахина. – М.: КолосС, 2004. – 520с.
3. Никитин, Г. Репродуктивные показатели коров при субклиническом кетозе под влиянием кормовых добавок / Г. Никитин, Г. Ширяев // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2023. – № 3. – С. 20-24.
4. Племяшов, К.В. Значение бета-каротина для крупного рогатого скота: опыт Ленинградской области / К.В. Племяшов, Т.О. Дмитриева, А.В. Варюхин // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2016. - №2. – С.134-136.
5. Сравнительная оценка динамики основных показателей метаболизма у коров с разной молочной продуктивностью / Л. Ю. Карпенко, Н. В. Пилаева, Р. М. Васильев, С. В. Васильева // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2018. – № 3. – С. 190-192.
6. Хохрин, С.Н. Кормление животных с основами кормопроизводства: учебник / С.Н. Хохрин, К.А. Рожков, И.В. Лунегова. СПб.: Проспект Науки, 2016. - 480 с.
7. Evaluation of the relationship between milk yield and the service period duration of cows / O.V. Gorelik, S.Yu. Harlap, N.D. Vinogradova [et al.] // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science / Krasnoyarsk Science and Technology City Hall. –Vol. 677. – Krasnoyarsk, Russian Federation: IOP Publishing Ltd, 2021. – P. 32019.– DOI 10.1088/1755-1315/677/3/032019.
8. Influence of the prebiotic feed additive "Vetokislinka" the microflora of the feces and hematological parameters of calves of milk period / F.S. Khaziakhmetov, S.L. Safronov, I.V. Knysh [et al.] // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Krasnoyarsk/ Krasnoyarsk Science and Technology City Hall. Vol. 677. – Krasnoyarsk, Russian Federation: IOP Publishing Ltd, 2021. – P. 32012. – DOI 10.1088/1755-1315/677/3/032012.
9. Relationship between cow milk yield and milk quality indicators / O.V. Gorelik, P.S. Galushina, I.V. Knysh [et al.] // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Krasnoyarsk/ Krasnoyarsk Science and Technology City Hall. – Vol. 677. – Krasnoyarsk, Russian Federation: IOP Publishing Ltd, 2021. – P. 32013. – DOI 10.1088/1755-1315/677/3/032013.

REFERENCES

1. Vinogradova, N. D. The influence of some factors on the productive longevity of cows / N. D. Vinogradova, R. V. Paderina // Scientific support for the development of agriculture in the conditions of reform: a collection of scientific papers based on the materials of the International scientific and practical conference of the teaching staff. - Part 1. – St. Petersburg-Pushkin: SPbGAU, 2014. – Pp. 147-149.
2. Methods of veterinary clinical laboratory diagnostics: Guide/Edited by prof. I.P. Kondrakhin. – M.: KolosS, 2004. – 520s.
3. Nikitin, G. Reproductive indicators of cows with subclinical ketosis under the influence of feed additives / G. Nikitin, G. Shiryaev // Veterinary medicine of farm animals. – 2023. – No. 3. – pp. 20-24.
4. Plemyashov, K.V. The value of beta-carotene for cattle: the experience of the Leningrad region / K.V. Plemyashov, T.O. Dmitrieva, A.V. Varyukhin // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. - 2016. - No. 2. – pp.134-136.
5. Comparative assessment of the dynamics of the main indicators of metabolism in cows with different milk productivity / L. Y. Karpenko, N. V. Pilaeva, R. M. Vasiliev, S. V. Vasilyeva // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. - 2018. – No. 3. – pp. 190-192.

6. Khokhrin, S.N. Animal feeding with the basics of feed production: textbook / S.N. Khokhrin, K.A. Rozhkov, I.V. Lunegova. SPb.: Prospect Nauki, 2016. - 480 p.
7. Evaluation of the relationship between milk yield and the duration of the service period of cows / O.V. Gorelik, S.Y. Kharlap, N.D. Vinogradova [et al.] // IOP conference series: Earth and Environment Science / Krasnoyarsk Scientific and Technical City Hall. – Volume 677. – Krasnoyarsk, Russian Federation: IOP Publishing House, LLC, 2021. – p. 32019.– DO 10.1088/1755-1315/677/3/032019.
8. The influence of the prebiotic feed additive "Vetokislinka" on the fecal microflora and hematological parameters of calves of the dairy period / F.S. Khaziakhmetov, S.L. Safronov, I.V. Knysh [et al.] // Series of conferences of the IOP: Science of the Earth and the environment, Krasnoyarsk/ Krasnoyarsk Scientific and Technical City Hall Volume 677. - Krasnoyarsk, Russian Federation: IOP Publishing House LLC, 2021. – p. 32012. – DO 10.1088/1755-1315/677/3/032012.
9. The relationship between cow yield and milk quality indicators / O.V. Gorelik, P.S. Galushina, I.V. Knysh [et al.] // IOP Conference series: Earth and Environment Science, Krasnoyarsk/ Krasnoyarsk City Hall for Science and Technology. – Volume 677. – Krasnoyarsk, Russian Federation: IOP Publishing House LLC, 2021. – p. 32013. – DPI 10.1088/1755-1315/677/3/032013.

УДК: 636.5:547.992
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.197

ВЛИЯНИЕ ФЕРМЕНТНОЙ ДОБАВКИ В СОЧЕТАНИИ С ЦИНКОМ В УЛЬТРАДИСПЕРСНОЙ ФОРМЕ НА ПРОДУКТИВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Нечитайло К.С. [1, 2 *] – канд. биол. наук, науч. сотр. (0000-0002-8755-414X); **Сизова Е.А.** [1, 2] – д-р биол. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-5125-5981); **Рязанцева К.В.** [1] – мл. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-5134-0396); **Кван О.В.** [1] – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-0561-7002).

[1]ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук»
[2]ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет»
*k.nechit@mail.ru

Ключевые слова: *цыплята-бройлеры, кормление, продуктивность, ферменты, цинк, амилаза, протеаза, липаза, ультрадисперсные частицы.*

Key words: *broiler chickens, feeding, productivity, enzymes, zinc, amylase, protease, lipase, ultrafine particles.*

Благодарности: *Исследования выполнены при поддержке гранта РНФ (проект № 22-26-00253).*

Поступила: 06.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Птицеводство является одной из важнейших и перспективных отраслей животноводства. С учётом наращивания темпов промышленного птицеводства, для стабильного развития отрасли и улучшения конкурентоспособности на мировом рынке, все больше внимания уделяется поиску безопасных альтернативных агентов для увеличения продуктивности. В исследовании изучена стратегия скармливания в виде кормовой добавки веществ различной природы, в частности ферментативного комплекса (I группа (0,05 %; эндо-1,4-бета-ксиланаза – 4000 ед./г, альфа-амилаза – 400 ед./г и субтилизин – 8000 ед./г)), и цинка в ультрадисперсной форме (II группа (3 мг/кг; 164±31,2 нм)). Установлено, в I группе коэффициенты переваримости сырого протеина были выше на 6,03 % ($P \leq 0,05$), сырой клетчатки на 3,68 % ($P \leq 0,05$), безазотистых экстрактивных веществ на 2,39 % ($P \leq 0,05$) в сравнении с контролем. При этом, во II группе изменения зафиксированы в отношении сырого протеина и сырой клетчатки – увеличение на 6,51% ($P \leq 0,01$) и 7,59 % ($P \leq 0,05$), соответственно. В 42-суточном возрасте живая масса цыплят-бройлеров I была выше контроля на 10,1 % ($P \leq 0,05$), во II группе на 11,32 % ($P \leq 0,01$). При этом затраты корма на 1 кг прироста были минимальными во II группе, на 16,79 % ниже контрольных значений. Таким образом, максимальный продуктивный эффект был отмечен при введении комплекса ферментной добавки в сочетании с цинком в ультрадисперсной форме.

ВВЕДЕНИЕ/ INTRODUCTION

Птицеводство является одной из важнейших и перспективных отраслей животноводства [1]. Однако, как и любая отрасль, птицеводство, имеет проблемы, негативно сказывающиеся на производительности и доходности предприятия. Применение принципов ресурсосберегающих технологий с учётом последних тенденций позволит обеспечить высокую рентабельность, стабильное развитие и улучшить конкурентоспособность на мировом рынке [2].

Одним из таких принципов является применение эффективных и безопасных стимуляторов роста [3]. При этом, учитывая высокий глобальный рост множественной лекарственной устойчивости, они не должны содержать в своем составе антибиотиков [4]. При этом, учитывая, тот факт, что высокопродуктивная птица подвержена частым инфекционным заболеваниям, полный отказ от антибиотических агентов невозможен [1]. Существует множество доступных альтернативных стимуляторов роста цыплят-бройлеров, имеющих различные механизмы действия на организм. Имеется ряд исследований, свидетельствующих о том, что стратегия объединения отдельных веществ различной природы является более эффективной, чем применение моно-добавок [3]. Однако, механизмы сочетанного действия, а также долгосрочные эффекты все еще нуждаются в детальном рассмотрении.

Помимо этого, при выращивании цыплят-бройлеров, производители вынуждены использовать дешёвые ингредиенты, что значительно снижает затраты на содержание птицы [5, 6]. Однако, такие компоненты содержат высокое количество антипитательных факторов, в частности некрахмалистые полисахариды. Для нивелирования действия подобных веществ, в рацион цыплят-бройлеров вводят ферменты [5, 7].

Так, в исследовании был выбран энзимный стимулятор роста и цинк в ультрадисперсной форме. Существует повышенный интерес исследователей к использованию ультрадисперсных частиц в качестве эффективной и безопасной альтернативной терапии против патогенных микроорганизмов, не вызывающей резистентности [8]. Выбор цинка определен, в первую очередь, его высокой антибактериальной активностью. Ультрадисперсная форма имеет большую удельную поверхность, что обуславливает высокую каталитическую активность, биодоступность и соответственно усиленное взаимодействие с бактериальной мембраной [9]. Помимо этого, цинк обладает противогрибковой, противопаразитарной, антидиабетической, иммуномодулирующей активностью и используются в качестве стимулятора роста [10].

Таким образом, цель исследования состояла в оценке как раздельного, так и сочетанного влияния ферментной добавки и цинка в ультрадисперсной форме на продуктивные показатели цыплят-бройлеров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Эксперимент был проведен на базе вивария ФГБНУ ФНЦ БСТРАН. Исследования выполнены на цыплятах-бройлерах кросса Арбор-Айкрес. В соответствии с целью исследования, формирование групп проводилось методом пар-аналогов, основанным на принципе аналогичных групп. Каждая из групп включала по 35 голов. В течение всего опыта все условия содержания и кормления были идентичными [5]. Основным рационом служила унифицированная стандартная пшенично-кукурузная кормосмесь, сформированная в соответствии с нормами ФНЦ «ВНИТИП» РАН [5]. Рацион в составе содержал ячмень, стартовый – 5 %, ростовой – 10%. Состав премикса был лишён кормовых антибиотиков.

Цыплятам контрольной группы вводили исключительно основной рацион. Цыплятам I опытной группе к основному рациону добавляли ферментную добавку - 0,05 %, содержащую в составе эндо-1,4-бета-ксиланазу – 4000 ед./г, альфа-амилазу – 400 ед./г и субтилизина – 8000 ед./г (ООО «Данзим», Россия). Цыплятам

II опытной группе вводили аналогичную ферментную добавку 0,05 % (ООО «Данзим», Россия) и цинк в ультрадисперсной форме 3 мг/кг корма («Передовые порошковые технологии», Томск; гидродинамический радиус – 164±31,2 нм; дзета потенциал – 25±0,5).

Продолжительность эксперимента составила 42 суток, из них подготовительный – 7 суток и учётный период – 35.

На основании балансового опыта проводили расчёт коэффициентов переваримости кормовых компонентов [5].

Лабораторные исследования выполнены в центре «Нанотехнологии в сельском хозяйстве» с использованием приборной базы ЦКП БСТ РАН http://цкпбст.рф.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

При рассмотрении экспериментальных результатов, установлено, что начиная с семисуточного возраста, набор живой массы цыплят-бройлеров как контрольной, так и опытных групп имел схожий характер (рис. 1), с незначительной тенденцией к снижению массы тела цыплят опытной групп в возрасте от 21 до 28 суток во II группе. Статистически значимые изменения массы тела цыплят-бройлеров II опытной группы были отмечены на 35 и 42 сутки, в частности увеличение на 9,86 % (P≤0,05) и 11, 32 % (P≤0,01) соответственно, в сравнении с контролем. Характер динамики массы тела I опытной группы был схожим с II группой, за исключением скачков роста на 21 и 28 сутки. В конце экспериментального периода на 42 сутки масса тела цыплят-бройлеров I группы была выше контроля на 10,1 % (P≤0,05).

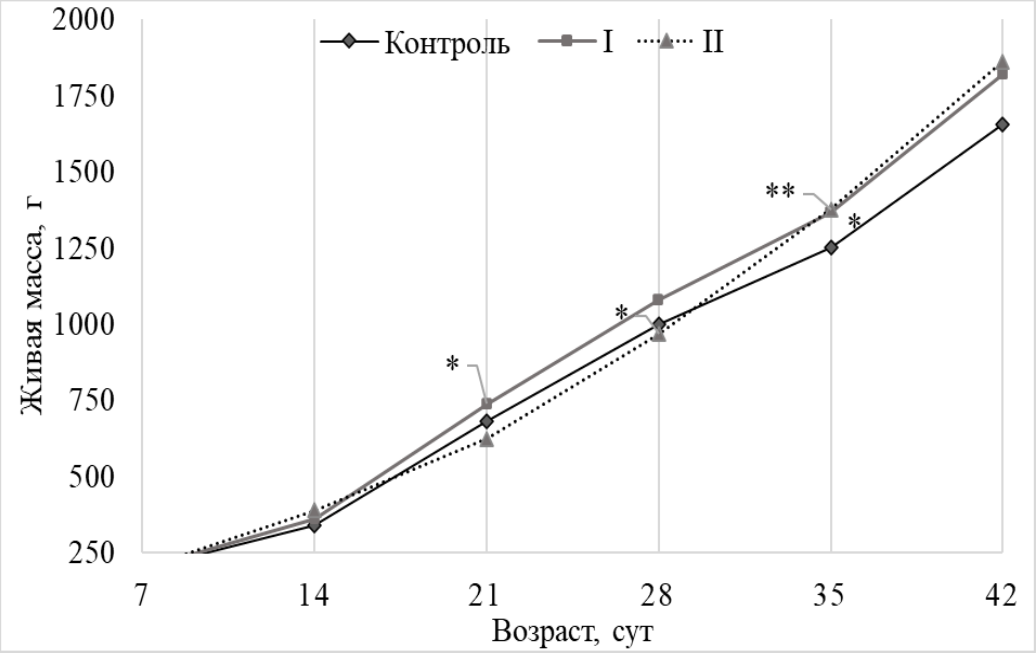


*Рисунок 1 – Диаграмма живой массы цыплят бройлеров на протяжении всего эксперимента. Примечание: * - P≤0,05; ** - P≤0,01 при сравнении контрольной и опытной групп.*

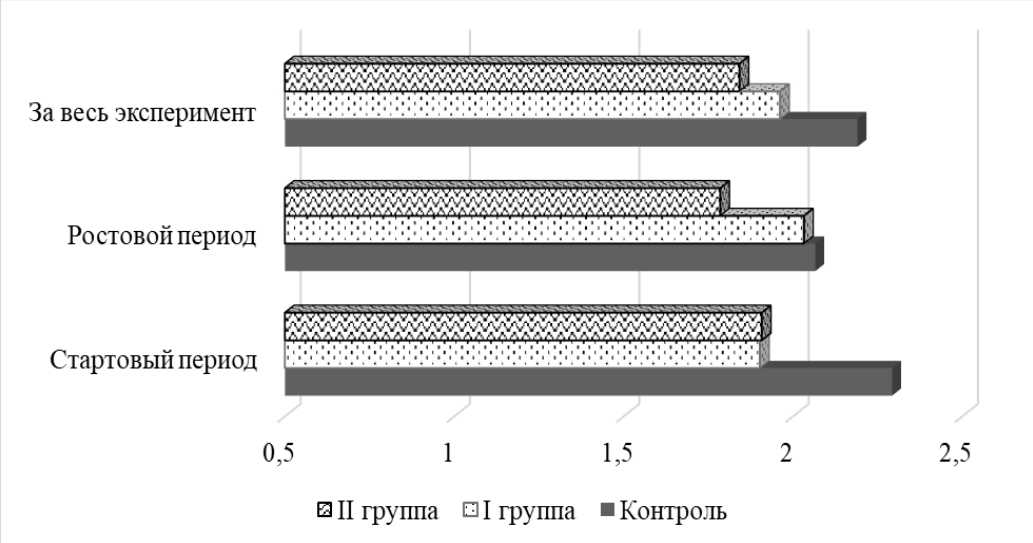


Рисунок 2 – Затраты корма на 1 кг прироста по периодам эксперимента, кг

Стратегия скармливания как мультиэнзимного комплекса отдельно, так и в сочетании с ультрадисперсным цинком обладали выраженным продуктивным эффектом. Однако, при рассмотрении затрат корма на 1 кг прироста (рис. 2), установлено в I опытной группе этот показатель был ниже в стартовом периоде на 17%, во II на 16,79% в сравнении с контролем. В ростовом периоде, разница между I группой и контролем была незначительной – 1,62 %, между II и контролем – 13,58%. За весь период эксперимента, затраты корма на 1 кг прироста в I опытной группе были ниже 10,45 % в сравнении с контролем, во II на 15, 92 %.

В зависимости от применения различных стратегий кормления менялось процентное отношение перевариваемых питательных веществ к потребленному (таблица 1, 2). Так, коэффициенты переваримости питательных веществ стартового рациона в I опытной группе были выше в отношении сырого протеина на 6,13 % (P≤0,05), сырой клетчатки на 4,5 % (P≤0,01) и безазотистых экстрактивных веществ на 2,33 % (P≤0,05) в сравнении с контрольными значениями. Во II опытной группе отметим более высокие значения коэффициентов переваримости сырого жира, сырой клетчатки и безазотистых экстрактивных веществ, на 7,36 % (P≤0,05), 4,24 % (P≤0,05) и 4,59 % (P≤0,05) соответственно, в сравнении с контролем.

В ходе анализа коэффициентов переваримости питательных веществ ростового рациона, ситуация сложилась иным образом. Так, наблюдалось увеличение в I группе сырого протеина на 6,03 % (P≤0,05), сырой клетчатки на 3,68 % (P≤0,05), безазотистых экстрактивных веществ на 2,39 % (P≤0,05) в сравнении с контролем. При этом, во II группе изменения коэффициентов переваримости в сравнении с контролем, зафиксированы в отношении сырого протеина и сырой клетчатки – увеличение на 6,51% (P≤0,01) и 7,59 % (P≤0,05), соответственно.

Коэффициент переваримости показывает, насколько эффективно птица усваивает питательные вещества корма. Поступившие с кормом нутриенты трансформируются путём ферментативного гидролиза до промежуточных продуктов, далее в мономеры с последующим всасыванием в кровь и использованием в процессе синтеза сложных органических соединений

тела. Ферментная добавка оказывает прямое действие на степень использования нутриентов, улучшая всасывание в кишечнике.

Ячмень является одним из лидеров по содержанию некрахмальных полисахаридов, в частности арабиноксиланов, β-глюканов. Действуя как физический барьер, данные полисахариды инкапсулируют питательные вещества эндосперма и повышают вязкость кишечного содержимого, тем самым ограничивая контакт с эндогенными ферментами. В результате происходит снижение пищевой ценности злака в рационе птице [6].

В исследовании введение ферментной добавки приводило к повышению коэффициентов переваримости питательных веществ как стартового, так и ростового рациона. При этом в группе сочетанного введения ультрадисперсного цинка, ситуация складывалась аналогичным образом. Вероятно, входящая в состав ксиланаза расщепляла арабиноксиланы, высвобождая инкапсулированный крахмал и другие питательные вещества, локализованные клеточной стенкой, одновременно с этим снижала вязкость кишечного содержимого, в связи с высокой долей растворимых некрахмальных полисахаридов [7]. Амилаза обеспечивала высокий уровень деградации крахмала [11], а протеаза улучшала усвояемость белка и снижала выделение азота [12]. Таким образом, все это в совокупности увеличивало энергетическую ценность рациона, что в последующем отражалось на улучшение прироста массы тела цыплят-бройлеров.

Однако, наиболее эффективной стратегией стало скармливание ферментной добавки с ультрадисперсным цинком. С учётом выраженного продуктивного эффекта на организм цыплят-бройлеров, стоит отметить в данной группе минимальные затраты корма на 1 кг прироста в сравнении с контролем. Вероятно, такой эффект был достигнут благодаря синергетическому действию ферментов и микроэлемента. Как уже было сказано выше, цинк обладая выраженным антибактериальным эффектом, возможно, способствовал модулированию микробиома кишечника [9]. Известно, что цинк в ультрадисперсной форме увеличивает количество бактерий, продуцирующих короткоцепочечные жирные кислоты, снижая долю патогенных бактерий [13]. Помимо этого, являясь ключевым микроэлементом множества метаболических путей, цинк оказывает прямое иммуномодулирующее действие на организм цыплят-бройлеров [14, 15, 16].

Таблица 1 – Коэффициенты переваримости питательных веществ стартового рациона

Показатель (%)	Контрольная	I опытная	II опытная
Сухое вещество	68,12±2,59	68,79 ± 1,75	74,40 ± 0,87
Сырой протеин	76,03±1,89	82,16 ± 2,23 *	79,46 ± 0,70
Сырой жир	75,91±2,14	76,27 ± 3,04	83,27 ± 0,57 *
Сырая клетчатка	16,72±0,44	21,22 ± 0,75 **	20,96 ± 0,69 *
Безазотистые экстрактивные вещества	76,24±1,96	78,57 ± 0,85 *	80,83 ± 0,65 *

*Примечание: * - P≤0,05; ** - P≤0,01 при сравнении контрольной и опытной групп.*

Таблица 2 – Коэффициенты переваримости питательных веществ ростового рациона

Показатель (%)	Контрольная	I опытная	II опытная
Сухое вещество	72,54 ± 1,78	73,25 ± 0,92	74,31 ± 1,07
Сырой протеин	74,78 ± 1,63	80,81 ± 1,25 *	81,29± 0,78 **
Сырой жир	84,2 ± 1,03	84,61 ± 2,11*	81,72 ± 0,76
Сырая клетчатка	17,94 ± 4,81	21,62 ± 1,62	25,53 ± 2,73 *
Безазотистые экстрактивные вещества	78,05 ± 1,38	80,44 ± 1,15 *	78,37 ± 0,91

*Примечание: * - P≤0,05; ** - P≤0,01 при сравнении контрольной и опытной групп.*

ВЫВОДЫ/ CONCLUSIONS

Как следствие, совокупное действие ферментной добавки и ультрадисперсного цинка приводит к увеличению переваримости и степени усвоения питательных веществ рациона.

Таким образом, учитывая, тот факт, что доступная энергия зерновых злаков имеет сильную отрицательную корреляцию с концентрацией некрахмальных полисахаридов, является целесообразным скармливание добавок на основе ферментов. При этом, добавление в рацион цыплят-бройлеров помимо ферментов, антибактериальных агентов, таких как ультрадисперсный цинк в дозе 3 мг/кг, приводит к максимальному продуктивному эффекту. В промышленном масштабе данная стратегия позволит снизить итоговую стоимость кормовых ресурсов, что в целом благоприятно отразится на экономических условиях интенсивного выращивания цыплят-бройлеров, без потери эффективности.

INFLUENCE OF ENZYME ADDITIVE IN COMBINATION WITH ZINC IN ULTRA-FINE FORM ON PRODUCTIVE INDICATORS OF BROILER CHICKENS

Nechitailo K. S. [1, 2] * – PhD of Biological Sciences, researcher (0000-0002-8755-414X); **Sizova E. A.** [1, 2] – Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher (ORCID 0000-0002-5125-5981); **Ryazantseva K. V.** [1] – research assistant (ORCID 0000-0001-5134-0396); **Kvan O.V.** [1] – PhD of Biological Sciences, Senior Researcher (ORCID 0000-0003-0561-7002).

[1] Federal Scientific Center for Biological Systems and Agricultural Technologies of the Russian Academy of Sciences, 460000, Orenburg, st. 9 January 29

[2] FGBOU HE "Orenburg State University"

*k.nechit@mail.ru

Acknowledgements: *The research was carried out with the support of the RGNF grant (project No. 22-26-00253).*

ABSTRACT

Poultry farming is one of the most important and promising branches of animal husbandry. Given the increasing rate of industrial poultry farming, for the stable development of the industry and improving competitiveness in world markets, more and more attention is paid to the search for safe alternative agents to increase productivity. The study examined the strategy of feeding substances of different nature as feed additives, in particular, enzyme complexes separately (group I (0,05%; endo-1,4-beta-xylanase - 4000 units/g, alpha-amylase - 400 units/g and subtilisin - 8000 units/g)) and in combination with ultra-dispersed zinc (group II (3 mg/kg; 164±31,2 nm)). It was found that in group I the digestibility ratios of crude protein were higher by 6.03 % (P≤0.05), crude fiber by 3.68 % (P≤0.05), nitrogen-free extractive substances by 2.39 % (P≤0.05) compared to control. At the same time, in group II, changes were recorded in crude protein and crude fiber - an in-

crease of 6.51% (P≤0.01) and 7.59% (P≤0.05), respectively. At 42 days of age, the live weight of broiler chickens I was 10.1% higher than control (P≤0.05), and in group II by 11.32% (P≤0.01). At the same time, the cost of feed per 1 kg of growth was minimal in group II, 16.79% lower than the control values. Thus, the maximum productive effect was observed with the introduction of a complex enzyme supplement in combination with zinc in ultradispersed form**.**

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Phillips, C. J. C. Immunomodulatory Effects of Natural Feed Additives for Meat Chicken / C. J. C. Phillips, B. Hosseintabar-Ghasemabad, I. F. Gorlov, M.I. Slozhenkina, A.A. Mosolov, A. Seidavi // Life (Basel). – 2023. – Vol. 13. – No. 6. –P.1287. DOI 10.3390/life13061287.
2. Li, Z. Effects of nonantibiotic growth promoter combinations on growth performance, nutrient utilization, digestive enzymes, intestinal morphology, and cecal microflora of broilers / Z. Li, B. Zhang, W. Zhu, Y. Lin, J. Chen, F. Zhu, Y. Guo // PLoS One. – 2023. – Vol. 18. – No 3. – P. e0279950. DOI 10.1371/journal.pone.0279950.
3. Buryakov, N.P. The Role of Supplementing a Complex Phytobiotic Feed Additive Containing (Castanea sativa mill) Extract in Combination with Calcium Butyrate, Zinc-Methionine and Essential Oils on Growth Indicators, Blood Profile and Carcass Quality of Broiler Chickens / N.P. Buryakov, A.Y. Zagarin, M.M. Fathala, D.E. Aleshin // Vet Sci. – 2023. – Vol. 10. – No. 3. – P. 212. DOI 10.3390/vetsci10030212.
4. Tabashsum, Z. Alternative approaches to therapeutics and subtherapeutics for sustainable poultry production / Z. Tabashsum, A. Scriba, D. Biswas // Poult Sci. – 2023. – Vol. 102. – No 7. – P. 102750. DOI 10.1016/j.psj.2023.102750.
5. Егоров И.А., Манукян В.А., Ленкова Т.Н., Егорова Т.А. и др. Методическое пособие по кормлению сельскохозяйственной птицы.т Сергиев Посад: ООО "Гран-При"; 2021 г. - 360 с.
6. Perera, W.N.U. Barley, an Undervalued Cereal for Poultry Diets: Limitations and Opportunities / W.N.U. Perera, M.R. Abdollahi, F. Zaefarian, T.J. Wester, V. Ravindran // Animals (Basel). – 2022. –Vol. 12. – No. 19. – P. 2525. DOI 10.3390/ani12192525.
7. Kim, M. Synergistic effect of exogenous multi-enzyme and phytase on growth performance, nutrients digestibility, blood metabolites, intestinal microflora and morphology in broilers fed corn-wheat-soybean meal diets / M. Kim, S.L. Ingale, A. Hosseindoust, Y. Choi, K. Kim, B. Chae // Anim Biosci. – 2021. – Vol. 34. – No. 8. – P.1365-1374. DOI 10.5713/ab.20.0663.
8. Awad, N.F.S. Therapeutic potentials of aivlosin and/or zinc oxide nanoparticles against Mycoplasma gallisepticum and/or Ornithobacterium rhinotracheale with a special reference to the effect of zinc oxide nanoparticles on aivlosin tissue residues: an in vivo approach / N.F.S. Awad, Y.M. Hashem, N.S. Elshater, E. Khalifa, R.I. Hamed, H.H. Nossieur, E.M. Abd-Allah, S.T. Elazab, M.A. Nassan, M.I.A. El-Hami // Poult Sci. – 2022. – Vol. 101. – No. 6. – P. 101884. DOI 10.1016/j.psj.2022.101884.
9. Qu, J. Effect of Two Particle Sizes of Nano Zinc Oxide on Growth Performance, Immune Function, Digestive Tract Morphology, and Intestinal Microbiota Composition in Broilers / J. Qu, X. Zuo, Q. Xu, M. Li, L. Zou, R. Tao, X. Liu, X. Wang, J. Wang, L. Wen, R. Li // Animals (Basel). – 2023. – Vol.13. – No. 9. – P. 1454. DOI 10.3390/ani13091454.
10. Lail, N.U. Biosynthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using Nigella sativa against coccidiosis in commercial poultry / N.U. Lail, A. Sattar, M.O. Omer, M.A. Hafeez, A.R. Khalid, S. Mahmood, M.A. Shabbir, W. Ahmed, M.T. Aleem, A. Alouffi, M.M. Almutairi // Sci Rep. – 2023. – Vol. 13. – No. 1. – P. 6568. DOI 10.1038/s41598-023-33416-4.
11. Stefanello, C. Utilization of corn-based diets supplemented with an exogenous α-amylase for broilers / C. Stefanello, S.L. Vieira, P. Soster, B.M.D. Santos, Y.K. Dalmoro, A. Favero, A.J. Cowieson // Poult Sci. – 2019. – Vol. 98. – No.11. – P. 5862-5869.

DOI 10.3382/ps/pez290.
12. Lee, J. Effects of exogenous protease on performance, economic evaluation, nutrient digestibility, fecal score, intestinal morphology, blood profile, carcass trait, and meat quality in broilers fed normal diets and diets considered with matrix value / J. Lee, H. Oh, Y. Kim, D. Song, J. An, S. Chang, Y. Go, H. Cho, B. Lee, W.K. Kim, J. Cho // Poult Sci. – 2023. – Vol. 102. – No. 5. – P. 102565. DOI 10.1016/j.psj.2023.102565.
13. Alian, H.A. Nano Zinc Oxide Improves Performance, IGF-I mRNA Expression, Meat Quality, and Humeral Immune Response and Alleviates Oxidative Stress and NF-κB Immunohistochemistry of Broiler Chickens. / H.A. Alian, H.M. Samy, M.T. Ibrahim, M.S. Yusuf, M.M.A. Mahmoud // Nano Biol Trace Elem Res. – 2023. – Vol. 201. – No. 8. – P. 4062-4078. DOI 10.1007/s12011-022-03494-y.
14. Zarghi, H. Effect of Supplemental Zinc on Performance, Nutrient Digestibility, Jejunum Architecture, and Immune Response in Broiler chickens Fed Wheat-Soy Diets / H. Zarghi, A. Golian, A. Hassanabadi, F. Khaligh //An Acad Bras Cienc. – 2022. –Vol. 94. – No. 2. – P. 20200266. DOI: 10.1590/0001-3765202220200266.
15. Сизова, Е.А. Эффективность различных форм цинка как иммуномодуляторов в рационах цыплят-бройлеров (*Gallus gallus L.)* / Е. А. Сизова, С.А. Мирошников, К.С. Нечитайло // Сельскохозяйственная биология. – 2023. – Т. 58, №2. – С. 373-385. – doi: 10.15389/agrobiology.2023.2.373rus.
16. Qu, J. Effect of Two Particle Sizes of Nano Zinc Oxide on Growth Performance, Immune Function, Digestive Tract Morphology, and Intestinal Microbiota Composition in Broilers / J. Qu, X. Zuo, Q. Xu, M. Li, L. Zou, R. Tao, X. Liu, X. Wang, J. Wang, L. Wen, R. Li // Animals (Basel). – 2023. – Vol. 13. – No. 9. – P.1454. DOI 10.3390/ani13091454.

REFERENCES

1. Phillips CJC, Hosseintabar-Ghasemabad B, Gorlov IF, Slozhenkina MI, Mosolov AA, Seidavi A. Immunomodulatory Effects of Natural Feed Additives for Meat Chickens. Life (Basel). 2023, 13(6):1287. doi: 10.3390/life13061287.
2. Li Z, Zhang B, Zhu W, Lin Y, Chen J, Zhu F, Guo Y. Effects of nonantibiotic growth promoter combinations on growth performance, nutrient utilization, digestive enzymes, intestinal morphology, and cecal microflora of broilers. PLoS One. 2023 Mar 30;18(3):e0279950. doi: 10.1371/journal.pone.0279950.
3. Buryakov NP, Zagarin AY, Fathala MM, Aleshin DE. The Role of Supplementing a Complex Phytobiotic Feed Additive Containing (Castanea sativa mill) Extract in Combination with Calcium Butyrate, Zinc-Methionine and Essential Oils on Growth Indicators, Blood Profile and Carcass Quality of Broiler Chickens. Vet Sci. 2023 Mar 10;10(3):212. doi: 10.3390/vetsci10030212.
4. Tabashsum Z, Scriba A, Biswas D. Alternative approaches to therapeutics and subtherapeutics for sustainable poultry production. Poult Sci. 2023 Jul;102(7):102750. doi: 10.1016/j.psj.2023.102750.
5. Egorov IA, Manukyan VA, Lenkova TN, Egorova TA et al. Guidelines for feeding agricultural poultry. Sergiev Posad: LLC "Grand Prix". 2021, 360 p. [in Russ.]
6. Perera WNU, Abdollahi MR, Zaefarian F, Wester TJ, Ravindran V. Barley, an Undervalued Cereal for Poultry Diets: Limitations and Opportunities. Animals (Basel). 2022 Sep 21;12(19):2525. doi: 10.3390/ani12192525.
7. Kim M, Ingale SL, Hosseindoust A, Choi Y, Kim K, Chae B. Synergistic effect of exogenous multi-enzyme and phytase on growth performance, nutrients digestibility, blood metabolites, intestinal microflora and morphology in broilers fed corn-wheat-soybean meal diets. Anim Biosci. 2021 Aug;34(8):1365-1374. doi: 10.5713/ab.20.0663.
8. Awad NFS, Hashem YM, Elshater NS, Khalifa E, Hamed RI, Nossieur HH, Abd-Allah EM, Elazab ST, Nassan MA, El-Hamid MIA. Therapeutic potentials of aivlosin and/or zinc oxide nanoparticles against Mycoplasma gallisepticum and/or Ornithobacterium rhinotracheale with a spe-

cial reference to the effect of zinc oxide nanoparticles on aivlosin tissue residues: an in vivo approach. Poult Sci. 2022 Jun;101 (6):101884. doi: 10.1016/j.psj.2022.101884.
9. Qu J, Zuo X, Xu Q, Li M, Zou L, Tao R, Liu X, Wang X, Wang J, Wen L, Li R. Effect of Two Particle Sizes of Nano Zinc Oxide on Growth Performance, Immune Function, Digestive Tract Morphology, and Intestinal Microbiota Composition in Broilers. Animals (Basel). 2023 Apr 25;13(9):1454. doi: 10.3390/ani13091454.
10. Lail NU, Sattar A, Omer MO, Hafeez MA, Khalid AR, Mahmood S, Shabbir MA, Ahmed W, Aleem MT, Alouffi A, Almutairi MM. Biosynthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using Nigella sativa against coccidiosis in commercial poultry. Sci Rep. 2023 Apr 21;13(1):6568. doi: 10.1038/s41598-023-33416-4.
11. Stefanello C, Vieira SL, Soster P, Santos BMD, Dalmoro YK, Favero A, Cowieson AJ. Utilization of corn-based diets supplemented with an exogenous α-amylase for broilers. Poult Sci. 2019 Nov 1;98(11):5862-5869. doi: 10.3382/ps/pez290.
12. Lee J, Oh H, Kim Y, Song D, An J, Chang S, Go Y, Cho H, Lee B, Kim WK, Cho J. Effects of exogenous protease on performance, economic evaluation, nutrient digestibility, fecal score, intestinal morphology, blood profile, carcass trait, and meat quality in broilers fed normal diets and diets considered with matrix value. Poult Sci. 2023 May;102(5):102565. doi: 10.1016/j.psj.2023.102565.
13. Alian, H.A. Nano Zinc Oxide Improves Performance, IGF-I mRNA Expression, Meat Quality, and Humeral Immune Response and Alleviates Oxidative Stress and NF-κB Immunohistochemistry of Broiler Chickens. / H.A. Alian, H.M. Samy, M.T. Ibrahim, M.S. Yusuf, M.M.A. Mahmoud // Nano Biol Trace Elem Res. – 2023. – Vol. 201. – No. 8. – P. 4062-4078. DOI 10.1007/s12011-022-03494-y.
14. Zarghi H, Golian A, Hassanabadi A, Khaligh F. Effect of Supplemental Zinc on Performance, Nutrient Digestibility, Jejunum Architecture, and Immune Response in Broiler chickens Fed Wheat-Soy Diets. An Acad Bras Cienc. 2022 Jun 13;94 (2):e20200266. doi: 10.1590/0001-3765202220200266.
15. Sizova, E.A. The effectiveness of various forms of zn as stimulators of the immune response in broiler chickens (Gallus gallus L.) / E.A. Sizova, S.A. Miroshnikov, K.S. Nechitailo // Agricultural biology. - 2023. - T. 58, No. 2. - S. 373-385. – doi: 10.15389/agrobiology.2023.2.373rus. [in Russ.]
16. Qu J, Zuo X, Xu Q, Li M, Zou L, Tao R, Liu X, Wang X, Wang J, Wen L, Li R. Effect of Two Particle Sizes of Nano Zinc Oxide on Growth Performance, Immune Function, Digestive Tract Morphology, and Intestinal Microbiota Composition in Broilers. Animals (Basel). 2023 Apr 25;13(9):1454. doi: 10.3390/ani13091454.

УДК 595.773.1.08
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.206

К ВОПРОСУ ОБ ИДЕНТИФИКАЦИИ МНОГОЯДНОЙ МУХИ-ГОРБАТКИ *MEGASELIA SCALARIS (LOEW)*

Жмуркина П.С.[1*] – магистрант 1 курса факультета ветеринарно-санитарной экспертизы; **Будович М.В.**[2] – гл. агроном отдела молекулярных исследований Северо-Западной испытательной лаборатории; **Карпенко А.А.** – магистрант 1 курса факультета ветеринарно-санитарной экспертизы; **Калюжная Т.В.** – канд. ветеринар. наук, доц. кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы (ORCID 0000-0002-8682-1840); **Орлова Д.А.** – канд. ветеринар. наук, доц. кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы (ORCID 0000-0002-8163-8780).

[1] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
[2] ФГБУ Северо-Западный филиал «Федеральный центр охраны здоровья животных»

*pannyteam@yandex.ru

Ключевые слова: *Многоядная муха-горбатка, секвенирование, генетическая дистанция, ДНК-баркодинг, ПЦР, карантинные объекты.*

Keywords: *Ant-decapitating flies, sequencing, genetic distance, DNA barcoding, PCR, quarantine facilities.*

Поступила: 04.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023




РЕФЕРАТ

Многоядная муха-горбатка (лат. *Megaselia scalaris (Loew)*) является карантинным объектом в Российской Федерации и внесена в Единый перечень карантинных объектов Евразийского экономического союза, утвержденный Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 30.11.2016 № 158, т.к. является переносчиком опасных заболеваний, несущих большой экономический ущерб. Ареал охватывает большие территории Северной Америки, Африки, южной части Европы, Австралии, Юго-Восточной Азии, а также европейскую часть России, а именно Южный федеральный округ и республика Крым. Перечень подкарантинной продукции, подлежащей исследованиям с целью выявления *M. scalaris (Loew)* очень обширный, а точная идентификации до вида полученных образцов энтомологическим методом по морфологическим признакам копулятивных органов затруднена. Поэтому для идентификации разработаны методы молекулярной диагностики, а именно сравнение исследуемой нуклеотидной последовательности с референсной, с помощью базы NCBI и определение генетических дистанций. Исследования проводили в отделе молекулярных исследований Северо-Западной испытательной лаборатории ФГБУ «ВНИИЗЖ». В работе использовалось 6 образцов рода Megaselia. На первом этапе выделяли ДНК при помощи наборов «ДНК-Экстран 2». Затем генетические маркеры получали методом классической ПЦР с последующей детекцией с помощью электрофореза, используя прибор T100 Thermal Cycler, секвенировли на генетическом анализаторе 3500 Genetic Analyzer. Идентификацию проводили путем сравнения полученной последовательности в программе BioEdit при помощи базы NCBI и путем расчета генетических дистанций, используя двухпараметрическую модель Кимуры и модель Тадзимы-Нэя. В ходе исследования были выявлены преимущества и недостатки представленных методов молекулярной идентификации.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Многоядная муха-горбатка (лат. *Megaselia scalaris (Loew)*) - мелкое насекомое из семейства двукрылых (Diptera), внесенное в Единый перечень карантинных объектов Евразийского экономического союза, утвержденный Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 30.11.2016 № 158. *M scalaris (Loew)* - переносчик чумы пчёл, холеры, а также зарегистрированы случаи кишечных миазов [1] при поедании растительной продукции, на которой паразитировали личинки многоядной мухи-горбатки, т.к. являются неспецифическими полифагами. Имаго имеет желтоватое или коричневатое тело, черные глаза и длина ее составляет 2–3 мм. Грудь горбовидная, крупная. Поперечные жилки на крыльях отсутствуют. В передней части крыла развиты так называемые «толстые жилки», костальная жилка с костальными ресничками тянется до половины крыла. Передвигаются преимущественно прерывистыми перебежками [2,3].

Ареал охватывает большие территории Северной Америки, Африки, южной части Европы, Австралии, Юго-Восточной Азии, а также европейскую часть России, а именно Южный федеральный округ и республика Крым. *M. scalaris* развиваются на широком спектре разлагающихся органических материалов растительного и животного происхождения (в т. ч. на навозе и падали), а также на живых растениях, грибах, на ранах животных. Возможен завоз вместе с сухим материалом растительного и животного происхождения и вместе с почвой для посадки. Из всего выше сказанного можно сделать вывод, что данный вид имеет множество путей распространения и постепенно становится космополитом [1,4].

M. scalaris (Loew) идентифицируют в стадии имаго по самцам, исследуя гипопигий – конец брюшка, несущий копулятивный орган. Так как не всегда полученный образец является самцом в стадии имаго, а именно это может быть самка в стадии имаго, яйцо, личинка, куколка, предкуколка, пупарий, точная идентификация до вида энтомологическим методом не всегда возможна [5]. Поэтому метод ДНК - штрихкодирования (ДНК-баркодинга), является более информативным.

По используемой внутри организации методике (03-2015 МР ВНИИКР), идентификация основывается на сравнении сходства исследуемой нуклеотидной последовательностью с референсной, с помощью базы NCBI (информационный ресурс национального центра биотехнологической информации, реализованный в сети Интерент (Генбанк)), учитывая 2 критерия: % покрытия последовательностей (для используемой в работе праймерной системы должен превышать 95%) и % идентичности последовательностей (для праймерной системы LCO1490/HCO2198 >95%). Целью исследования стало испытание новой методики, основанной на двух методах определения генетической дистанции, используя двухпараметрическую модели Кимуры и модель Тадзимы-Нэя.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования осуществляли в Северо-Западной испытательной лаборатории ФГБУ «ВНИИЗЖ» на базе отдела молекулярных исследований, основываясь на используемой внутри организации методической рекомендации по идентификации насекомых и клещей методом ДНК-штрихкодирования (ДНК-баркодинга) (03 -2015 МР ВНИИКР) и на методической рекомендации по выявлению и идентификации многоядной мухи-горбатки *Megaselia scalaris (Loew)* (158-2019 МР ВНИИКР). Обе методические рекомендации были разработаны ФГБУ «ВНИИКР». В работе использовались 6 образцов насекомых рода Megaselia, поступивших в феромонных ловушках с проб пищевой растительной продукции.

Выделение ДНК проводили методом обработки образца протеиназой К с последующим удалением белков без экстракции органическими растворителями при помощи набора «ДНК-Экстран 2» («Синтол», Россия). Предварительно

образцы растирали тефлоновыми пестиками, добавляли 300 мкл лизирующего буфера и 1 мкл меркоптанэтанола, и выдерживали в термостате при температуре 56 °С до 2-х суток. После выделения проводили измерение концентрации ДНК при помощи микроспектрофотометра NanoDrop OneC («Thermo Fisher Scientific», США). Концентрация ДНК должна находить в диапазоне от 20 до 60.

Для идентификации насекомых необходимо использовать генетический маркер митохондриального генома – фрагмент гена цитохром-с-оксидаза I (COI) [3]. Генетические маркеры получали методом классической ПЦР с последующей детекцией с помощью электрофореза. Полученные ампликоны очищались путем связывания ДНК на мембранных колонках в присутствии высококонцентрированных хаотропных веществ, с последующей промывкой и элюцией при помощи набора Cleanup S-Cap («Евроген», Россия). Затем проводилась амплификация «BigDye», с последующей очисткой буфером с магнитными частицами из набора D-Pure («NimaGen», Нидерланды) (таблица 1).

Таблица 1 – Последовательности праймеров и условия амплификации

Праймер		LCO1490	HCO2198
Нуклеотидная последовательность праймера		GGTCAACAAATCATCA TAAAGATATTGG	TAAACTTCAGGGTGAC-CAAAAAATCA
Температурный профиль	Классическая ПЦР	Денатурация при 94°С, продолжительность 10 мин. 5 циклов: денатурация при 94°С, продолжительность 30 сек, отжиг праймеров при 45°С, продолжительность 30 сек, элонгация при 72°С, продолжительность 90 сек. 35 циклов: денатурация при 94°С, продолжительность 30 сек, отжиг праймеров при 51°С, продолжительность 1 мин, элонгация при 72°С, продолжительность 1 мин. Финальная элонгация 72°С, продолжительность 10 мин.	
	«BigDye»	Денатурация при 96°С, продолжительность 1 мин. 25 циклов: денатурация при 94°С, продолжительность 10 сек, отжиг праймеров при 50°С. продолжительность 5 сек, элонгация при 60°С, продолжительность 4 сек. Удержание при 4°С, продолжительность 1 цикл.	

Амплификацию проводили при помощи прибора T100 Thermal Cycler («BIO-RAD», США). Для проведения секвенирования пригодным считался ПЦР-продукт длиной 550–700 п.о..

1 метод. На генетическом анализаторе 3500 Genetic Analyzer («Thermo Fisher Scientific», США) проводили секвенирование. Последовательность генетического маркера получали по прямому и обратному праймерам с помощью программы BioEdit. Идентификация проводилась путем сравнения последовательности исследуемого образца с референсной последовательностью с помощью базы NCBI и с помощью BLAST (Basic Local Alignment Search Tool – средство поиска основного локального выравнивания, семейство компьютерных программ, реализованных на базе NCBI) учитывая 2 критерия: % покрытия последовательностей (для используемой в работе праймерной системы должен превышать 95%) и % идентичности последовательностей (для праймерной системы LCO1490/HCO2198 >95%).

2 метод. Сравнивая н.п. образца с референсной последовательностью, определяли генетическую дистанцию, используя два способа.

Первый способ основан на двухпараметрической модели Кимуры. Суть метода заключается в разной вероятности замены нуклеотидов путем транзиции (замена пуринового основания на пуриновое, или пиримидинового основания на пиримидиновое) и трансверзии (замена пуринового основания на пиримидиновое и наоборот) [4].

Генетическая дистанция (d_{K_2P}) определяется по формуле:

$$d_{K_2P} = -\frac{1}{2}\ln(1-2P-Q) - \frac{1}{4} - \ln(1-2Q)$$

Где: P – вероятность транзиции, Q – вероятность трансверзии.

Второй способ определения генетической дистанции методом Тадзимы – Нэя (d) определяется формулами:

$$d = -b\ln(1-\frac{p}{b})$$

$$b = \frac{1}{2}(1-\sum_{i=1}^{4} g_i^2 + \frac{p^2}{c})$$

$$c = \sum_{i=1}^{3}\sum_{j=i+1}^{4} \frac{x_{ij}^2}{2g_i g_j}$$

Где: x_{ij} – относительные частоты н.п., g_i – относительные частоты нуклеотидов, p – отношение количества различий к частотам пар нуклеотидов.

Идентификация считается достоверной, если полученные значения генетических дистанций <0,07, т.к. значения генетических дистанций у других видов рода Megaselia по сравнению с референсной последовательностью больше 0,07.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Проводя исследования по первому методу, были получены данные, представленные в таблице 2.

Из таблицы 2 можно сделать вывод, что при сравнении полученных последовательностей исследуемых образцов с референсной последовательностью при помощи базы NCBI, образец под номером 3 был идентифицирован как M. Spiracularis (рис. 1), который не относится к карантинным объектам Российской Федерации. Все критерии для используемой праймерной системы были соблюдены.

Проводя исследования по второму методу, были получены данные, представленные в таблице 3.

Идентификация по генетическим дистанциям показала, что все образцы, за исключением образца под номером 3, являются M. scalaris, т.к. значения генетических дистанций <0,07.

Таблица 2 – Результаты идентификации с помощью базы NCBI

№ образца	% покрытия последовательностей	% идентичности последовательностей	Результаты исследования
1	100,0	99,68	Megaselia scalaris (Loew)
2	96,00	96,25	Megaselia scalaris (Loew)
3	100,00	95,63	Megaselia spiracularis
4	100,00	97,89	Megaselia scalaris (Loew)
5	96,00	97,60	Megaselia scalaris (Loew)
6	100,00	98,92	Megaselia scalaris (Loew)

Таблица 3 – Значения генетических дистанций по двум моделям

№ образца	1	2	3	4	5	6
Двухпараметрическая модель Кимуры (генетическая дистанция)	0,033	0,006	0,139	0,0044	0,084	0,027
Модель Тадзимы-Нэя (генетическая дистанция)	0,031	0,006	0,129	0,0043	0,066	0,026
Идентификация	<0,07	<0,07	>0,07	<0,07	>0,07; <0,07	<0,07

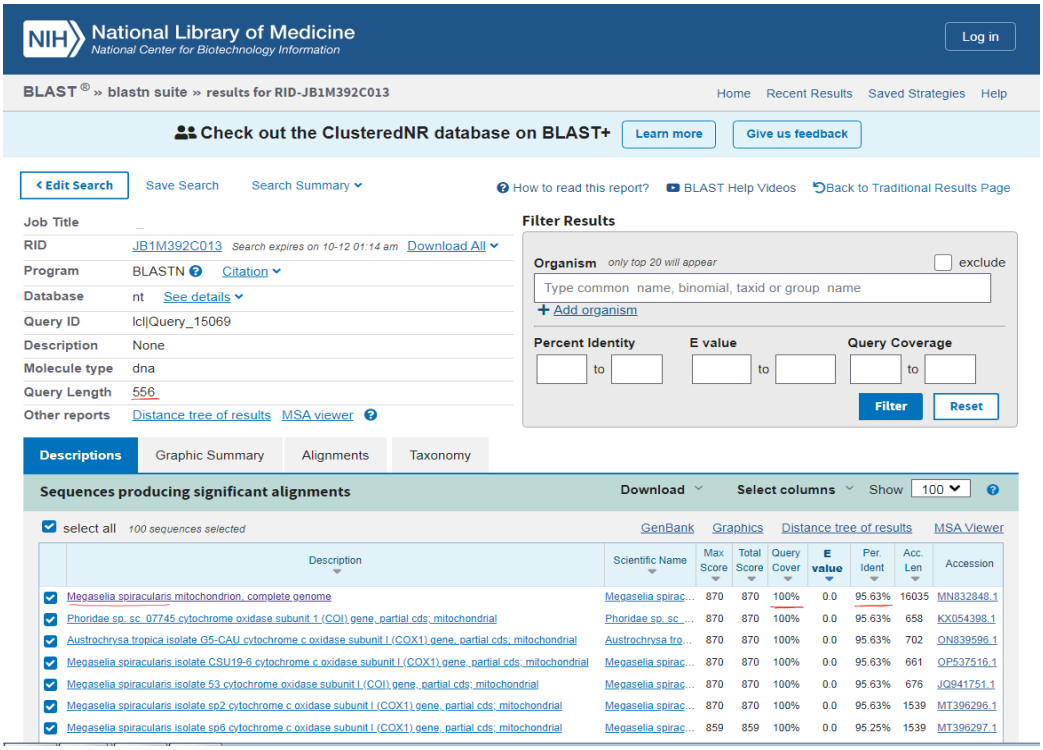


Рисунок 1 – Результаты идентификации образца 3 с помощью базы NCBI.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Идентификация двумя методами показала, что первый метод является более точным и информативным, но занимает большее количество времени на исследование, в то время как второй метод имеет погрешность, но требует меньших временных затрат.

Помимо этого, метод идентификации по генетическим дистанциям не позволяет определить образец до вида, если значения выходят за искомые пределы.

Анализируя данные, полученные в ходе использования двух методов можно сделать вывод, что относительно идентификации при помощи базы NCBI, расчет генетических дистанций с помощью двухпараметрической модели Кимуры имеет большую погрешность, чем использование модели Тадзимы-Нэя, что видно в таблице 3 по образцу под номером 5, который при расчете, используя модель Кимуры, показал результат 0,084, что >0,07 и не позволяет идентифицировать данный объект как *Megaselia scalaris (Loew)*, в то время, как расчет при использовании модели Тадзимы-Нэя дал результат 0,066 (<0,07). При идентификации при помощи базы NCBI образец под номером 5 являлся *Megaselia scalaris (Loew)* (рис. 2).

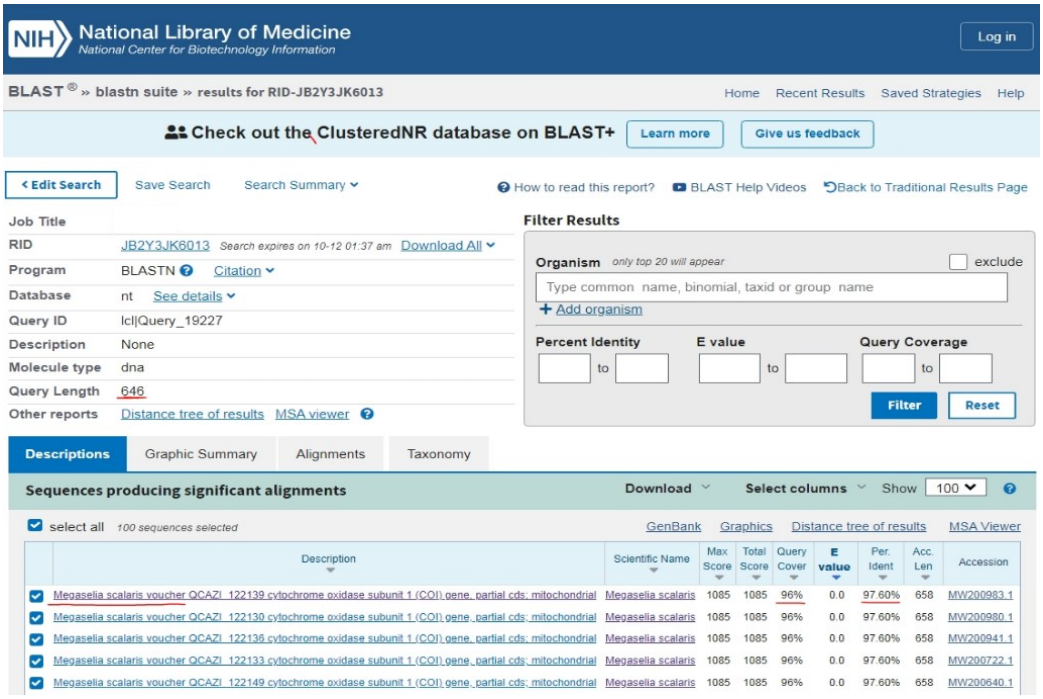


Рисунок 2 – Результаты идентификации образца 5 с помощью базы NCBI.

ON THE IDENTIFICATION OF THE MULTI-EATING HUMPBACK FLY MEGASELIA SCALARIS (LOEW)

Zhmurkina P.S.[1*] – 1st year master's student of the Faculty of Veterinary and Sanitary Examination; **Budovich M.V.**[2] – Chief Agronomist of the Department of Molecular Research of the SZ-IL; **Karpenko A. A.**[1] – 1st year master's student of the Faculty of Veterinary and Sanitary Examination; **Kalyuzhnaya T.V.**[1] – PhD of veterinary science, Associate Professor, (ORCID 0000-0002-8682-1840); **Orlova D.A.**[1] – PhD of veterinary science, Associate Professor, (ORCID 0000-0002-8163-8780).

[1] Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «SPbSUVM»

[2] North -West Branch of Federal State-Financed Institution «Federal Centre for Animal Health»

*pannyteam@yandex.ru

ABSTRACT

Ant-decapitating flies (lat. *Megaselia scalaris (Loew)*) is a quarantine object in the Russian Federation and is included in the Single list of quarantine objects of the Eurasian Economic Union, approved by the of the Council of the Eurasian Economic Commission dated 30.11.2016 No. 158, because it is a vector of dangerous diseases that cause great economic damage. The range covers large areas of North America, Africa, southern Europe, Australia, Southeast Asia, as well as the European part of Russia, namely the Southern Federal District and the Republic of Crimea. The list of regulated products subject to research to identify *M. scalaris (Loew)* is very extensive, and accurate identification to species of the received samples by entomological method by morphological features of copulatory organs is very labor-intensive and not accurate. Therefore, methods of molecular diagnostics were developed for identification, namely, comparison of the studied nucleotide sequence with the refer-

ence one using NCBI database and determination of genetic distances. The studies were carried out on the basis of the Department of Molecular Research of the North-West Testing Laboratory of FGBU «ARRIAH». Six samples of the genus Megaselia were used in this work. At the first stage, DNA was isolated using DNA-Extran 2 kits. Then genetic markers were obtained by classical PCR with subsequent detection by electrophoresis using the T100 Thermal Cycler, sequenced on a 3500 Genetic Analyzer. Identification was performed by comparing the obtained sequence in BioEdit program using NCBI database and by calculating genetic distances using two-parameter Kimura model and Tajima-Nei model. The study revealed advantages and disadvantages of the presented methods of molecular identification.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Boehme P., Amendt J., Disney R.H.L., Zehner R. 2010. Molecular identifications of carrion-breeding scuttle flies (Diptera: Phoridae) using COI barcodes. International Journal of Legal Medicine, 124: 577-581.
2. Borgmeir T.A. 1968. A Catalogue of the Phoridae of the World (Diptera, Phoridae). Studia Entomologica, 11: 1-367;
3. Cover F. 1991. Insect and Mite Pests in Food: An Illustrated Key. Vol 1. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service: 767.
4. Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. Journal of molecular evolution. Vol. 16. № 2. P. 11–120.
5. Кузнецов, В. М. Методы Нея для анализа генетических различий между популяциями / В. М. Кузнецов // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2020. – № 1. – С. 91-110.

REFERENCES

1. Cover F. 1991. Insect and Mite Pests in Food: An Illustrated Key. Vol 1. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service: 767.
2. Borgmeir T.A. 1968. A Catalogue of the Phoridae of the World (Diptera, Phoridae). Studia Entomologica, 11: 1-367;
3. Boehme P., Amendt J., Disney R.H.L., Zehner R. 2010. Molecular identifications of carrion-breeding scuttle flies (Diptera: Phoridae) using COI barcodes. International Journal of Legal Medicine, 124: 577-581.
4. Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. Journal of molecular evolution. Vol. 16. № 2. P. 11–120.
5. Kuznetsov, V. M. Ney's methods for analyzing genetic differences between populations [Проблемы биологии продуктивных животных]. 2020.;1:91-110. [in Russ.]

БИОХИМИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ

УДК: 616-073.75:611.33:636.4-053.31
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.213

КРОВОСНАБЖЕНИЕ ЖЕЛУДКА СВИНЕЙ ПОРОДЫ ЙОРКШИР НА ЭТАПАХ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА

Полянская А.И. * – асп. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0002-7119-8857); **Щипакин М.В.** – д-р ветеринар. наук, проф. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0002-2960-3222).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* polyanskaya2808@mail.ru

Ключевые слова: *поросенок, желудок, гистология, железы, кардиа, пилорус, оболочки, слои, возраст.*

Key words: *piglet, stomach, histology, glands, cardia, pilorus, shells, layers, age.*

Поступила: 02.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Развитие агропромышленного комплекса Российской Федерации – одна из приоритетных задач в сельском хозяйстве. Свиньи обладают рядом биологических особенностей, которые удачно используются для получения продукции (свинина, шпик, бекон). С интенсификацией свиноводства особое внимание уделяется научным подходам в вопросах совершенствования кормления свиней. В связи с этим мы поставили перед собой цель исследования – изучить артериальную васкуляризацию желудка у поросят породы йоркшир и определить морфометрические данные органа на этапах постнатального онтогенеза. Исследование проводили на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Трупный материал для исследования был доставлен на кафедру анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» со свиноводческого комплекса «Идаванг Агро» д. Нурма, Тосненского района Ленинградской области. Исследование проводили по трем возрастным группам, согласно периодизации жизни свиней. Для достижения поставленной задачи были использованы традиционные морфологические методы исследования, а именно: тонкое анатомическое препарирование, фотографирование, вазорентгенография с морфометрией в программе «RadiAnt». При исследовании было установлено, что артериальная васкуляризация желудка у поросят породы йоркшир на этапах постнатального онтогенеза осуществляется за счет печеночной и селезеночной артерий, которые являются ветвями чревной артерии. Ветви артерий первого порядка ветвятся по рассыпному типу. При проведении сравнительного анализа морфометрических характеристик печеночной и селезеночной артерий и их ветвей, мы пришли к выводу, что диаметр печеночной артерии будет превалировать над селезеночной, а их ветви первого порядка диаметрально противоположны друг друга.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Развитие агропромышленного комплекса Российской Федерации – одна из приоритетных задач в сельском хозяйстве. Свиноводство одно из наиболее рентабельных отраслей животноводства. Это обусловлено тем, что свиньи обладают рядом биологических особенностей, которые удачно используются для получения продукции (свинина, шпик, бекон). С интенсификацией свиноводства особое внимание уделяется научным подходам в вопросах совершенствования кормления свиней. У всех млекопитающих, в том числе у свиней в раннем постнатальном периоде жизни происходит адаптация органов пищеварения к изменяющийся условиям содержания и кормления. Большая функциональная нагрузка у новорожденных поросят приходится на желудок, в связи с ранним введением в рацион прикорма. Морфофункциональные основы становления желудка у поросят в раннем постнатальном онтогенезе являются основополагающими при корректировке зоотехнических норм и технологических карт. Для интенсификации свиноводства как отрасли необходимо решать ряд проблем. Ключевой из них является сохранность молодняка, при одновременном сокращении подсосного периода. На данный момент не все отечественные породы свиней обладают высокой продуктивностью, не отличаются хорошими мясными качествами, медленно растут и не соответствуют требованиям к беконному откорму, в связи с этим российские агропромышленные комплексы завозят различные породы свиней из-за рубежа для селекции. За эталон были выбраны такие породы свиней как: ландрас, дюрок, йоркшир, пьетрен, которые отличаются высоким многоплодием (в среднем 18 голов при опоросе), быстрым приростом живой массы. Также данные породы свиней можно разводить как в чистопородном виде, так и использовать для скрещивания с отечественными породами для получения гибридов.

В связи с этим мы поставили перед собой цель исследования – изучить артериальную васкуляризацию желудка у поросят породы йоркшир и определить морфометрические данные органа на этапах постнатального онтогенеза [1-8].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHOD

Исследование проводили на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Трупный материал для исследования был доставлен на кафедру анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» со свиноводческого комплекса «Идаванг Агро» д. Нурма, Тосненского района Ленинградской области.

Исследование проводили по трем возрастным группам, согласно периодизации жизни свиней: первая стадия развития – новорожденные поросята (1-4 дня неонатального периода); вторая стадия развития – первая молочная (5-21 день неонатального периода); третья стадия развития – вторая молочная (22-45 дней постнатального периода). Из первой стадии развития использовали новорожденных однодневных поросят; из второй – поросят 10-14 дней и из третьей – поросят 28-30 дней постнатального периода онтогенеза. Средняя масса тела у поросят 1 группы – 550 г.; 2 группа – 1550 г.; 3 группы – 3000 г. Всего происследовано по пять поросят в каждой возрастной группе. Возраст определяли по бонитировочным карточкам и со слов главного ветеринарного врача комплекса. Для достижения поставленной задачи были использованы традиционные морфологические методы исследования, а именно: тонкое анатомическое препарирование, фотографирование, вазорентгенография с морфометрией в программе «RadiAnt» [9-14].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

По результатам исследования было установлено, что васкуляризация желудка поросят породы йоркшир осуществляется за счет ветвей чревной артерии (a. celiaca), которая в свою очередь отходит от вентральной стенки брюшной аорты (a.

abdominalis) позади диафрагмы. При измерении диаметра брюшной аорты у поросят породы йоркшир первой возрастной группы (1 день от рождения) в среднем составляет 5,15±0,52 мм, второй группы (10-14 дней от рождения) составляет 6,20±0,65 мм и в третьей группе (28-30 дней от рождения) – 7,15±0,70 мм. Морфометрические данные показали, что во второй возрастной группе поросят 10-14 дней породы йоркшир диаметр брюшной аорты увеличивается в среднем в 1,20 раза и в третьей возрастной группе 28-30 дней жизни в 1,39 раза по сравнению с однодневными поросятами.

Чревная артерия (a. celiaca) – является непарным сосудом, которая идет от брюшной аорты под первым поясничным позвонком и на своем пути у поросят йоркширской породы отдает печеночную (a. hepatica), селезеночную (a. lienalis) артерии и левую желудочную артерии (a. gastrica sinistra). При измерении диаметра чревной артерии у поросят породы йоркшир первой возрастной группы (1 день от рождения) в среднем составляет 1,70±0,20 мм, второй группы (10-14 дней от рождения) составляет 2,15±0,20 мм и в третьей группе (28-30 дней от рождения) – 3,35±0,35 мм. Морфометрические данные показали, что во второй возрастной группе поросят 10-14 дней породы йоркшир диаметр чревной артерии увеличивается в среднем в 1,26 раза и в третьей возрастной группе 28-30 дней жизни в 1,97 раза по сравнению с однодневными поросятами.

Печеночная артерия отходит от чревной артерии и является основным источником васкуляризации печени. От данного сосуда, на пилорическую часть желудка и начальную часть двенадцатиперстной кишки отходит правая желудочная артерия (a. gastrica dextra). Она направляется к малой кривизне желудка в стенке ее ветвится по рассыпному типу. Также от печеночной артерии отходит желудочно-двенадцатиперстная, которая отдает в области пилоруса желудка правую желудочно-сальниковую артерию (a. gastroepiploca dextra), переходящая на большую кривизну. При измерении диаметра печеночной артерии у поросят породы йоркшир первой возрастной группы (1 день от рождения) в среднем составляет 0,87±0,20 мм, второй группы (10-14 дней от рождения) составляет 1,15±0,15 мм и в третьей группе (28-30 дней от рождения) – 2,93±0,30 мм. Морфометрические данные показали, что во второй возрастной группе поросят 10-14 дней породы йоркшир диаметр печеночной артерии увеличивается в среднем в 1,32 раза и в третьей возрастной группе 28-30 дней жизни в 3,37 раза по сравнению с однодневными поросятами. При морфометрии диаметра правой желудочной артерии у поросят породы йоркшир первой возрастной группы (1 день от рождения) в среднем составляет 0,44±0,04 мм, второй группы (10-14 дней от рождения) составляет 0,65±0,06 мм и в третьей группе (28-30 дней от рождения) – 1,45±0,15 мм. Морфометрические данные показали, что во второй возрастной группе поросят 10-14 дней породы йоркшир диаметр правой желудочной артерии увеличивается в среднем в 1,48 раза и в третьей возрастной группе 28-30 дней жизни в 3,30 раза по сравнению с однодневными поросятами. При морфометрии диаметра правой желудочно-сальниковой артерии у поросят породы йоркшир первой возрастной группы (1 день от рождения) в среднем составляет 0,38±0,03 мм, второй группы (10-14 дней от рождения) составляет 0,56±0,05мм и в третьей группе (28-30 дней от рождения) – 1,23±0,20 мм. Морфометрические данные показали, что во второй возрастной группе поросят 10-14 дней породы йоркшир диаметр правой желудочно-сальниковой артерии увеличивается в среднем в 1,47 раза и в третьей возрастной группе 28-30 дней жизни в 3,24 раза по сравнению с однодневными поросятами.

Селезеночная артерия берет свое начало от чревной артерии и в самом начале своего пути отдает левую желудочную артерию (a. gastrica sinistra), которая направляется к кардии желудка и в области малой кривизны ветвится по рассып-

ному типу и образует анастомозы с правой желудочной артерией ветви, которые учувствуют в кровоснабжении стенки желудка у поросят. После этого от селезеночной артерии отходит левая желудочно -сальниковая артерия (a. gastroepiploca sinistra), которая идет по большой кривизне желудка образует анастомозы с правой желудочно-сальниковой артерией и их ветви будут питать желудок вместе с большим сальником. При морфометрии диаметра селезеночной артерии у поросят породы йоркшир первой возрастной группы (1 день от рождения) в среднем составляет 0,64±0,06 мм, второй группы (10 -14 дней от рождения) составляет 0,85±0,08 мм и в третьей группе (28-30 дней от рождения) – 2,52±0,25 мм. Морфометрические данные показали, что во второй возрастной группе поросят 10-14 дней породы йоркшир диаметр селезеночной артерии увеличивается в среднем в 1,33 раза и в третьей возрастной группе 28-30 дней жизни в 3,94 раза по сравнению с однодневными поросятами. При морфометрии диаметра левой желудочной артерии у поросят породы йоркшир первой возрастной группы (1 день от рождения) в среднем составляет 0,56±0,05 мм, второй группы (10-14 дней от рождения) составляет 0,85±0,08 мм и в третьей группе (28-30 дней от рождения) – 1,35±0,15 мм. Морфометрические данные показали, что во второй возрастной группе поросят 10-14 дней породы йоркшир диаметр левой желудочной артерии увеличивается в среднем в 1,52 раза и в третьей возрастной группе 28-30 дней жизни в 2,41 раза по сравнению с однодневными поросятами. При морфометрии диаметра левой желудочно-сальниковой артерии у поросят породы йоркшир первой возрастной группы (1 день от рождения) в среднем составляет 0,42±0,04 мм, второй группы (10-14 дней от рождения) составляет 0,65±0,06 мм и в третьей группе (28-30 дней от рождения) – 1,12±0,10 мм. Морфометрические данные показали, что во второй возрастной группе поросят 10-14 дней породы йоркшир диаметр левой желудочно-сальниковой артерии увеличивается в среднем в 1,55 раза и в третьей возрастной группе 28-30 дней жизни в 2,67 раза по сравнению с однодневными поросятами.

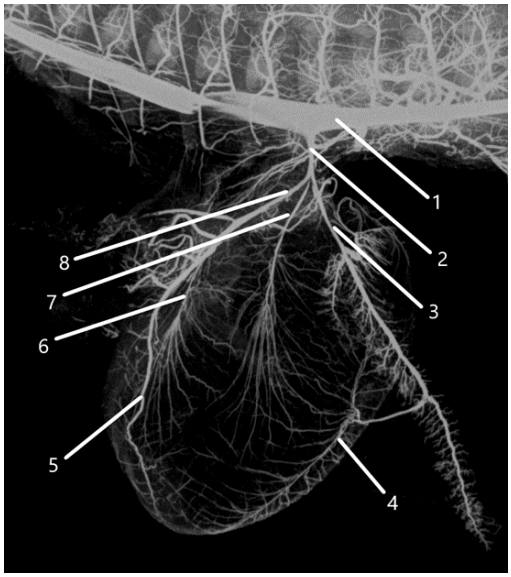


Рисунок 1 – Артерии желудка новорожденного поросенка йоркширской породы. Вазорентгенограмма. Возраст 1 день. Инъекция сосудов свинцовым суриком:
1 – брюшная аорта; 2 – чревная артерия; 3 – селезеночная артерия; 4 – левая желудочно-сальниковая артерия; 5 – правая желудочно-сальниковая артерия; 6 – правая желудочная артерия; 7 – левая желудочная артерия; 8 – печеночная артерия.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, при исследовании было установлено, что артериальная васкуляризация желудка у поросят породы йоркшир на этапах постнатального онтогенеза осуществляется за счет печеночной и селезеночной артерий, которые являются ветвями чревной артерии. Ветви артерий первого порядка ветвятся по рассыпному типу. При проведении сравнительного анализа морфометрических характеристик печеночной и селезеночной артерий и их ветвей, мы пришли к выводу, что диаметр печеночной артерии

будет превалировать над селезеночной, а их ветви первого порядка диаметрально противоположны друг друга.

BLOOD SUPPLY TO THE STOMACH OF YORKSHIRE PIGS AT THE STAGES OF POSTNATAL ONTOGENESIS

Polyanskaya A.I. * – asp. dep. Animal Anatomy (ORCID 0000-0002-7119-8857), **Shchipakin M.V.** – Doctor of Veterinary Sciences, Prof. Animal Anatomy (ORCID: 0000-0002-2960-3222).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* polyanskaya2808@mail.ru

ABSTRACT

The development of the agro–industrial complex of the Russian Federation is one of the priorities in agriculture. Pig breeding is one of the most profitable branches of animal husbandry. This is due to the fact that pigs have a number of biological features that are successfully used to produce products (pork, bacon, bacon). With the intensification of pig breeding, special attention is paid to scientific approaches to improving pig feeding. In this regard, we set ourselves the goal of the study – to study the arterial vascularization of the stomach in Yorkshire piglets and to determine the morphometric data of the organ at the stages of postnatal ontogenesis. The study was conducted at the Department of Animal Anatomy of the St. Petersburg State University of Veterinary Medicine. Cadaver material for the study was delivered to the Department of Animal Anatomy of the St. Petersburg State University of Veterinary Medicine from the Idavang Agro pig breeding complex in Nurma village, Tosnensky district of the Leningrad Region. The study was conducted in three age groups, according to the periodization of the life of pigs. To achieve this task, traditional morphological research methods were used, namely: fine anatomical dissection, photographing, vasorentgenography with morphometry in the "RadiAnt" program. During the study, it was found that arterial gastric vascularization in Yorkshire piglets at the stages of postnatal ontogenesis is carried out due to the hepatic and splenic arteries, which are branches of the abdominal artery. The branches of the arteries of the first order branch in a loose type. When conducting a comparative analysis of the morphometric characteristics of the hepatic and splenic arteries and their branches, we came to the conclusion that the diameter of the hepatic artery will prevail over the splenic, and their branches of the first order are diametrically opposed to each other.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Шендаков, А. И., Ляшук Р. Племенная ценность датских свиней // Животноводство России. 2015:2:14-15. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25436077.

2. Мельников, С. И. Анатомо-топографические особенности многокамерного желудка овец эдильбаевской породы // Материалы 74-й международной научной конференции молодых ученых и студентов СПбГАВМ, посвященной 75-летию Победы в Великой Отечественной войне, Санкт-Петербург, 06–15 апреля 2020 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2020:150-151. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44767812.

3. Мельников С. И., Щипакин М. В. Постнатальный гистогенез преджелудков у овец эдильбаевской породы // Морфология в XXI веке: теория, методология, практика: Сборник трудов всероссийской (национальной) научно-практической конференции, Москва, 01–04 июня 2021 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина», 2021:127-130. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=50040776.

4. Щипакин М. В., Зеленевский Н. В., Прусаков А. В., Былинская Д. С. Морфология желудка кролика породы немецкий великан // Материалы международной научной конференции профессорско-

преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ, Санкт-Петербург, 22–26 января 2018 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2018:110-112. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=34846837.

5. Веремеева С. А., Сидорова К. А. Морфологическая оценка структуры желудка кроликов и их мясной продуктивности. Аграрный научный журнал. 2015:9:14-16. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=24210362

6. Веремеева С. А., Сидорова К. А. Анатомо-гистологическое строение стенки желудка кроликов // Наука и образование: сохраняя прошлое, создаём будущее: сборник статей Международной научно-практической конференции, Пенза, 20 июня 2016 года. – Пенза: 2016:133-136. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=26197414.

7. Петренко, В. М. Сравнительная анатомия желудка у некоторых грызунов / В. М. Петренко // Международный журнал экспериментального образования.2015:5-1:12-13.

8. Саможапова, С. Д., Рядинская Н. И. Анатомические особенности желудка байкальской нерпы // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова. 2017:2 (47):105-109. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29325332.

9. Зеленевский Н. В., Щипакин М. В. Практикум по ветеринарной анатомии: учебное пособие: в 3-х томах. Том 2. Санкт-Петербург: Информационно-консалтинговый центр; 2014. 317 с. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25722704.

10. Зеленевский, Н. В., Щипакин М. В. Анатомия животных: Учебник для вузов / 3-е издание, стереотипное. Санкт-Петербург: Издательство "Лань", 2022:484. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48047107.

11. Зеленевский Н. В., Прусаков А. В. Особенности строения многокамерного желудка телят чёрно-пёстрой породы (сообщение второе) // Иппология и ветеринария. 2017:3(25):103-107. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=30394439.

12. Полянская, А. И. Динамика морфометрических данных желудка у поросят породы йоркшир / А. И. Полянская // Материалы 75-й межрегиональной науч.-практ. конференции молодых ученых «Ступени роста – 2023». – Кострома: Изд-во Костром. гос. ун-та, 2023. – С. 55-56. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=54375585

13. Полянская, А. И. Анатомические закономерности желудка поросят породы йоркшир в возрастном аспекте / А. И. Полянская, М. В. Щипакин // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства : сборник трудов по материалам международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения доктора биологических наук, профессора, Заслуженного работника Высшей школы РФ, Почётного работника высшего профессионального образования РФ, Почётного профессора Брянской ГСХА, Почётного гражданина Брянской области Егора Павловича Ващекина, Брянск, 24 января 2023 года. – Брянск: Брянский государственный аграрный университет, 2023. – С. 232-235. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=50411031

14. Полянская, А. И. Вазорентгенография желудка у однодневных поросят породы йоркшир / А. И. Полянская, М. В. Щипакин // Реализация приоритетных программ развития АПК : Сборник научных трудов по итогам X Международной научно-практической конференции, посвященная памяти заслуженного деятеля науки РФ и КБР, профессора Бориса Хажмуратовича Жерукова, Нальчик, 24–26 ноября 2022 года. Том Часть I. – Нальчик: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Кабардино-Балкарский государственный аграрный университет имени В.М. Кокова", 2022. – С. 222-224. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=50145649.

REFERENCES

1. Shendakov, A. I., Lyashuk R. Breeding value of Danish pigs // Animal husbandry of Russia. 2015:2:14-15. (In Russ.) URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25436077.
2. Melnikov, S. I. Anatomical and topographic features of the multicameral stomach of sheep of the Edilbaevsky breed // Materials of the 74th International Scientific Conference of young scientists and students of SPbGAVM, dedicated to the 75th anniversary of Victory in the Great Patriotic War, St. Petersburg, April 06-15, 2020. – St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2020:150-151. (In Russ.) URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44767812.
3. Melnikov S. I., Shchipakin M. V. Postnatal histogenesis of pre-ventricles in sheep of the Edilbaev breed // Morphology in the XXI century: theory, methodology, practice: Proceedings of the All-Russian (national) scientific and practical conference, Moscow, June 01-04, 2021. – Moscow: Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology - MBA named after K.I. Scriabin", 2021:127-130. (In Russ.) URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=50040776.
4. Shchipakin M. V., Zelenevsky N. V., Prusakov A.V., Bylinskaya D. S. Morphology of the stomach of a rabbit of the German giant breed // Materials of the international scientific conference of the teaching staff, researchers and postgraduates of SPbGAVM, St. Petersburg, January 22-26, 2018. – St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2018:110-112. (In Russ.) URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=34846837.
5. Veremeeva S. A., Sidorova K. A. Morphological assessment of the stomach structure of rabbits and their meat productivity. Agricultural Scientific Journal. 2015:9:14-16. (In Russ.) URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=24210362.
6. Veremeeva S. A., Sidorova K. A. Anatomical and histological structure of the stomach wall of rabbits // Science and education: preserving the past, creating the future : collection of articles of the International Scientific and practical Conference, Penza, June 20, 2016. – Penza: 2016:133-136. (In Russ.) URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=26197414.
7. Petrenko, V. M. Comparative anatomy of the stomach in some rodents / V. M. Petrenko // International Journal of Experimental Education. 2015:5-1:12-13.
8. Samozhapova, S. D., Ryadinskaya N. I. Anatomical features of the stomach of the Baikal seal // Bulletin of the Buryat State Agricultural Academy named after V.R. Filippov. 2017:2(47):105-109. (In Russ.) URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29325332.
9. Zelenevsky N. V., Shchipakin M. V. Workshop on veterinary anatomy: textbook: in 3 volumes. Volume 2. St. Petersburg: Information and Consulting Center; 2014. 317 p. Access mode: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25722704
10. Zelenevsky, N. V., Shchipakin M. V. Animal anatomy: Textbook for universities / 3rd edition, stereotypical. Saint Petersburg: Lan Publishing House, 2022:484. (In Russ.) URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48047107.
11. Zelenevsky N. V., Prusakov A.V. Features of the structure of the multicameral stomach of black-and-white calves (the second message) // Hippology and veterinary medicine. 2017:3(25):103-107. (In Russ.) URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=30394439.
12. Polyanskaya, A. I. Dynamics of morphometric stomach data in Yorkshire piglets / A. I. Polyanskaya // Materials of the 75th interregional scientific and practical conference of young scientists "Stages of growth – 2023". – Kostroma: Publishing House of Kostrom. State University, 2023:55-56. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=54375585
13. Polyanskaya, A. I. Anatomical patterns of the stomach of Yorkshire piglets in the age aspect / A. I. Polyanskaya, M. V. Shchipakin // Actual problems of intensive development of animal husbandry : a collection of works based on the materials of the

international scientific and practical conference dedicated to the 90th anniversary of the birth of Doctor of Biological Sciences, Professor, Honored Worker of Higher Education of the Russian Federation, Honorary Worker of Higher Professional Education of the Russian Federation, Honorary Professor of the Bryansk State Agricultural Academy, Honorary Citizen of the Bryansk region Egor Pavlovich Vashchekin, Bryansk, January 24, 2023. – Bryansk: Bryansk State Agrarian University, 2023:232-235. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=50411031

14. Polyanskaya, A. I. Vasorentgenography of the stomach in one-day Yorkshire piglets / A. I. Polyanskaya, M. V. Shchipakin // Implementation of priority programs for the development of agriculture: A collection of scientific papers on the results of the X International Scientific and Practical Conference dedicated to the memory of the Honored Scientist of the Russian Federation and the CBD, Professor Boris Khazhmuratovich Zherukov, Nalchik, November 24-26, 2022 years. Volume Part I. – Nalchik: Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Kabardino-Balkarian State Agrarian University named after V.M. Kokov", 2022:222-224. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=50145649.

УДК: 636.22.28:612.622.089.67
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.221

СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КОНЦЕНТРАЦИИ АНТИМЮЛЛЕРОВА ГОРМОНА И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ КОРОВ-ДОНОРОВ В ЛЮТЕИНОВУЮ ФАЗУ ЦИКЛА

Козицына А.И.* – канд. ветеринар. наук, доц. каф. биохимии и физиологии (ORCID 0000-0003-3005-0968); **Карпенко Л.Ю.** – д-р биол. наук, проф., зав. каф. биохимии и физиологии (ORCID 0000-0002-2781-5993); **Никитин Г.С.** – канд. ветеринар. наук, доц. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID 0000-0002-2080-2970); **Ачилов В.В.** – к. вет. н., асс. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий; **Олонцев В.А.** – асп. 1 года обучения каф. кормления и разведения животных; **Семенова В.С.** – асп.2 года обучения каф. генетических и репродуктивных биотехнологий.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* anna.kozitzyna@yandex.ru

Ключевые слова: *крупный рогатый скот, голштинская порода, антимюллеров гормон, лабораторная диагностика, статистика.*

Keywords: *cattle, holstein breed, anti-muller hormone, laboratory diagnostics, statistics*

Финансирование: *исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-76-01089, https://rscf.ru/project/23-76-01089/.*

Поступила: 25.09.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Повышение продуктивности коров в условиях современного мира является ключевым аспектом животноводства. Трансплантация эмбрионов у коров позволяет увеличить производство генетически ценных животных и улучшить племенные качества стада. Одним из методов определения активности и резерва яичников является определение антимюллерова гормона в крови. АМГ играет важную роль в регуляции репродуктивной функции у животных, включая коров. Высокие уровни АМГ могут указывать на хорошую резервную способность яичников, что может быть полезно при выборе животных для разведения. В представленном исследовании был проведен анализ биохимических показателей крови 9 коров голштинской породы в лютеиновую фазу. Между показателем уровня АМГ и показателями мочевины и азота мочевины была выявлена прямая корреляция высокой степени (0,89 и 0,89 соответственно). Между показателем уровня АМГ и уровнем креатинина сыворотки крови была выявлена прямая заметная корреляция (0,63). Также при оценке показателей минерального обмена были выявлены сильные корреляционные зависимости: отрицательная при сравнении уровня

АМГ с уровнем кальция (-0,71) и положительная при сравнении уровня АМГ с уровнем фосфора (0,78). Регуляция синтеза самого АМГ и его метаболические воздействия изучены мало, существует только ограниченное число данных о взаимосвязи гормона с другими факторами аутокринной и паракринной регуляции. Для более точного понимания этой корреляции и ее значимости необходимо проведение дополнительных исследований.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Повышение продуктивности коров в условиях современного мира является ключевым аспектом животноводства [10]. Это позволит увеличить объем производства молока, что важно для удовлетворения растущего спроса на молочную продукцию. Более продуктивные животные могут производить больше молока при использовании тех же или даже меньших ресурсов, таких как корм, вода и пространство, что способствует улучшению эффективности производства, и может улучшить экономическое благосостояние животноводческих предприятий. [4 9] Кроме того, селекция может привести к получению более устойчивых к изменениям климата, плохим условиям или другим стрессовым ситуациям животных, что может снизить риск потерь в производстве. Повышению продуктивности также способствует обновление и улучшение генетических линий стада, что важно для сохранения качества и устойчивости стада на долгосрочной перспективе. Одним из методов генетического улучшения показателей крупного рогатого скота является применение методов генной инженерии, трансплантации эмбрионов и искусственного осеменения.

Трансплантация эмбрионов у коров - это процесс переноса эмбриона от одной коровы (донора) в другую (реципиенту) с целью разведения и улучшения генетических характеристик стада. За счет трансплантации можно увеличить количество потомства, которое получено от высокоценных генетических коров, что позволяет производить потомство с желаемыми характеристиками. Трансплантация эмбрионов может быть более эффективной и экономически выгодной для особо ценных особей, чем естественное разведение, поскольку позволяет увеличить количество потомства от одной коровы-донора. Кроме того, данная процедура также может быть использована для сохранения и распространения генетических ресурсов угрожаемых или ценных генетических линий. Таким образом, трансплантация эмбрионов у коров имеет большое значение для улучшения генетических характеристик стада, увеличения плодовитости и улучшения эффективности разведения в животноводстве, однако, для успешной трансплантации эмбрионов необходимо получить множественную овуляцию с выходом нескольких яйцеклеток. Как правило, достигается это при помощи суперовуляции. [5, 6]

К суперовуляции коров-доноров обычно прибегают для увеличения количества яйцеклеток, которые оплодотворяются в половых путях донора с использованием искусственного осеменения повышенной дозой спермы. При этом корова-донора подвергается специальной программе стимуляции фолликулогенеза. Это обычно делается путем введения фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов в сочетании со схемой синхронизации полового цикла. Полученные эмбрионы могут быть трансплантированы реципиентам с меньшей племенной ценностью или криоконсервированы в жидком азоте. Этот процесс позволяет увеличить производство генетически ценных животных и улучшить племенные качества стада. Однако, в виду сложности процедуры получения эмбрионов in vivo существует ряд неизученных аспектов, снижающих эффективность метода. Одним из них является не стабильная реакция на суперовуляцию отдельных коров-доноров и низкий ответ на гормональную терапию со стороны их яичников. [5]

Одним из методов определения активности и резерва яичников является определение антимюллерова гормона в крови.

АМГ играет важную роль в регуляции репродуктивной функции у животных, включая коров. Высокие уровни АМГ могут указывать на хорошую резервную способность яичников, что может быть полезно при выборе животных для разведения. Измерение уровня АМГ может помочь в мониторинге репродуктивного цикла коровы, а также определении оптимального времени для осеменения или искусственного оплодотворения. Оценка АМГ может помочь в мониторинге репродуктивного здоровья стада, включая определение возможных проблем или рисков, связанных с репродуктивной функцией. [3, 8]

Однако, на настоящий момент механизмы действия АМГ на организм животных в целом и коров в частности изучены недостаточно, кроме того, в отечественной литературе мало данных, затрагивающих использование АМГ в ветеринарии сельскохозяйственных животных, а в свою очередь, применение изменения уровня этого гормона может оказаться крайне полезным. [1, 7, 8] Таким образом, статистическая оценка уровня АМГ и соотношения данного показателя с другими биохимическими параметрами – это актуальная задача.

Целью представленного исследования была статистическая оценка уровня АМГ и биохимических показателей сыворотки крови коров в лютеиновую фазу для последующего выявления наиболее значимых закономерностей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHOD S

В представленном исследовании был проведен анализ биохимических показателей крови 9 коров голштинской породы. Тип содержания беспривязный, кормление полнорационными кормами, согласно физиологическим потребностям. Все коровы были подвергнуты клиническому осмотру. Забор проб крови осуществлялся из подхвостовой вены с соблюдением правил асептики и антисептики.

Таблица 1 – Результаты биохимического исследования сыворотки крови коров (n=9, M±m)

Показатель	Ед. изм.	Значение	Коэффициент корреляции показателей с АМГ
АМГ	пмоль/л	14131,16 ± 10524,03	
Эстрадиол	пмоль/л	842,03 ± 1164,49	-0,27
Прогестерон	нмоль/л	20,99 ± 15,07	-0,21
Тестостерон	нмоль/л	1,71 ± 1,17	-0,19
Общий белок	г/л	84,13 ± 3,40	-0,02
Альбумин	г/л	36,41 ± 4,19	0,03
Глобулины	г/л	47,72 ± 5,38	-0,04
Мочевина	ммоль/л	5,55 ± 1,27	**0,89**
Азот мочевины	ммоль/л	2,59 ± 0,59	**0,89**
Креатинин	мкмоль/л	81,81 ± 7,83	0,63
Билирубин	мкмоль/л	2,74 ± 0,69	-0,31
АлАт	МЕ/л	27,76 ± 4,09	0,17
АсАт	МЕ/л	83,03 ± 11,45	-0,21
Щелочная фосфатаза	МЕ/л	57,37 ± 14,18	-0,36
Амилаза	МЕ/л	88,34 ± 37,22	0,37
Глюкоза	ммоль/л	2,91 ± 0,95	0,08
Холестерин	ммоль/л	4,66 ± 1,01	-0,22
Кальций общий	ммоль/л	2,64 ± 0,19	**-0,71**
Фосфор	ммоль/л	2,04 ± 0,29	**0,78**

В сыворотке крови определяли количество общего белка, альбумина, глобулина, мочевины, азота мочевины, креатинина, билирубина, глюкозы, холестерина, общего кальция, фосфора, эстрадиола, прогестерона, тестостерона, амнтимюллерова гормона (АМГ), а также активность ферментов сыворотки крови: аланинаминострансферазы (АлАт), аспартатаминотрансферазы (АсАт), щелочной фосфатазы и амилазы по общепринятым методикам. У всех исследуемых животных был определен уровень прогестерона выше 4 нг/мл, что, в совокупности с клиническим осмотром, подтверждало лютеиновую фазу цикла у данных животных.

Статистическая обработка полученных данных включала вычисление среднего арифметического, определение стандартного отклонения и степени корреляции с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Полученные результаты биохимических исследований сыворотки крови представлены в таблице 1.

В ходе оценки корреляционных параметров были выявлены следующие зависимости. Между показателем уровня АМГ и показателями мочевины и азота мочевины была выявлена прямая корреляция высокой степени (0,89 и 0,89 соответственно). Между показателем уровня АМГ и уровнем креатинина сыворотки крови была выявлена прямая заметная корреляция (0,63). Также при оценке показателей минерального обмена были выявлены сильные корреляционные зависимости: отрицательная при сравнении уровня АМГ с уровнем кальция (-0,71) и положительная при сравнении уровня АМГ с уровнем фосфора (0,78).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Исходя из полученных на настоящее время данных, основные корреляционные паттерны были выявлены между показателями белкового (мочевина, азот мочевины) и минерального обменов (кальций и фосфор).

Уровень АМГ и мочевины у коров могут коррелировать из-за их связи с функцией яичников. АМГ производится яичниками и играет роль в регуляции роста фолликулов в яичниках. Его уровень может быть связан с репродуктивной функцией коров и их способностью производить яйцеклетки, характеризует овариальный резерв. [8] Мочевина, с другой стороны, является конечным продуктом обмена азота, а также важным показателем белкового обмена у жвачных. Таким образом, если уровень АМГ и мочевины коррелируют, это может указывать на усиление обменных процессов, связанных с метаболизмом белков, реакций превращении аминокислот при более значительной степени овуляции.

Кальций и фосфор являются важными макроэлементами, необходимыми для роста, развития и поддержания здоровья костей, мускулатуры, нервной системы и других органов. Корреляция между уровнем АМГ и содержанием кальция и фосфора может указывать на взаимосвязь между активацией процессов активного роста фолликулов, связанной с реакциями фосфорилирования, и общим состоянием минерального обмена, так как овуляция и последующие каскады физиологических реакций – энергозатратный процесс, вовлекающий, кроме прочего, и элетролитный состав организма.

Регуляция синтеза самого АМГ и его метаболические воздействия изучены мало, существует только ограниченное число данных о взаимосвязи гормона с другими факторами аутокринной и паракринной регуляции. [1, 2] Для более точного понимания этой корреляции и ее значимости необходимо проведение дополнительных исследований.

STATISTICAL ASSESSMENT OF ANTI-MULLER HORMONE AND BLOOD BIOCHEMICAL PARAMETERS OF DONOR COWS DURING THE LUTEAL PHASE OF THE CYCLE

Kozitcyna A.I.* – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor (ORCID 0000-0003-3005-0968), **Karpenko L.Yu.** – Doctor of Biological Sciences, Professor (ORCID 0000-0002-2781-5993); **Nikitin G.S.** – Candidate of Veterinary Sciences,

Associate Professor (ORCID 0000-0002-2080-2970), **Achilov V.V.** – Candidate of Veterinary Sciences, Assistant, **Olontsev V.A.** – 1st year postgraduate student, **Semenova V.S.** – 2nd year postgraduate student.

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*anna.kozitzyna@yandex.ru

Financing: *The research was financially supported by the Russian Science Foundation (Grant No. 23-76-01089), https://rscf.ru/project/23-76-01089/*

ABSTRACT

Increasing the productivity of cows in the modern world is a key aspect of animal husbandry. Embryo transplantation in cows makes it possible to increase the production of genetically valuable animals and improve the breeding qualities of the herd. One of the methods for determining the activity and reserve of the ovaries is the determination of anti-Muller hormone in the blood. AMH plays an important role in the regulation of reproductive function in animals, including cows. High levels of AMH may indicate a good reserve capacity of the ovaries, which may be useful when choosing animals for breeding. In the presented study, the biochemical parameters of the blood of 9 Holstein cows in the luteal phase were analyzed. A direct correlation of a high degree (0.89 and 0.89, respectively) was found between the AMH level indicator and urea and urea nitrogen indicators. There was a direct noticeable correlation between the AMH level and the serum creatinine level (0.63). Also, when assessing the indicators of mineral metabolism, strong correlations were revealed: negative when comparing the level of AMH with the level of calcium (-0.71) and positive when comparing the level of AMH with the level of phosphorus (0.78). The regulation of the synthesis of AMH itself and its metabolic effects have been studied little, there is only a limited amount of data on the relationship of the hormone with other factors of autocrine and paracrine regulation. For a more accurate understanding of this correlation and its significance, additional research is needed.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Кузнецова, И. В. Роль антимюллерова гормона в женской репродукции / И. В. Кузнецова, Ю. С. Драпкина // Медицинский алфавит. – 2017. – Т. 2, № 10(307). – С. 9-16.

2.Роль витамина D в исходах программ вспомогательных репродуктивных технологий / З. М. С. Найми, Е. А. Калинина, А. Е. Донников [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2015. – № 11. – С. 5-10.

3.Скриганюк, А. А. антимюллеров гормон / А. А. Скриганюк, А. Н. Харламова // Universum: медицина и фармакология. – 2019. – № 1(56). – С. 16-18.

4.Шушакова, А. Д. Методы контроля нарушения показателя РН крови у крупного рогатого скота / А. Д. Шушакова // Молодые исследователи агропромышленного и лесного комплексов – регионам: Сборник научных трудов по результатам работы VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Вологда-Молочное, 20 апреля 2023 года. Том 3. – Вологда-Молочное: Вологодская государственная молочнохозяйственная академия им. Н.В. Верещагина, 2023. – С. 242-245.

5.Alward, Kayla J, and Jillian F Bohlen. “Overview of Anti-Müllerian hormone (AMH) and association with fertility in female cattle.” Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene vol. 55,1 (2020): 3-10. doi:10.1111/rda.13583.

6.Differential expression of anti-Müllerian hormone (amh) and anti-Müllerian hormone receptor type II (amhrII) // Developmental Dynamics 2007 Jan;236(1):271-81.

7.Gamarra, G et al. “Dietary propylene glycol and in vitro embryo production after ovum pick-up in heifers with different anti-Müllerian hormone profiles.” Reproduction, fertility, and development vol. 27,8 (2015): 1249-61. doi:10.1071/RD14091.

8.Mossa, Francesca, and James J Ireland. “Physiology and endocrinology symposium: Anti-Müllerian hormone: a biomarker for the ovarian reserve, ovarian function, and fertili-

ty in dairy cows." Journal of animal science vol. 97,4 (2019): 1446-1455. doi:10.1093/jas/skz022.
9.Mycotoxin eliminator "Elitox" in lasttrimester pregnant cows application impact on immune blood profile of offspring / A. Kozitsyna, L. Karpenko, A. Bakhta [et al.] // Reproduction in Domestic Animals. – 2018. – Vol. 53, No. S2. – P. 153.
10.Pregnant Cows and Heifers Blood Profile Comparison / A. I. Kozitcyna, L. Yu. Karpenko, A. A. Bakhta [et al.] // International scientific and practical conference "Agro-SMART - Smart solutions for agriculture" (Agro-SMART 2018), Tyumen, 16–20 июля 2018 года. Vol. 151. – Tyumen: Atlantis Press, 2018. – P. 391-396.

REFERENCES

1. Kuznetsova, I. V. The role of anti-muller hormone in female reproduction / I. V. Kuznetsova, Yu. S. Drapkina // Medical Alphabet. – 2017. – Vol. 2, No. 10(307). – pp. 9-16.
2.The role of vitamin D in the outcomes of assisted reproductive technology programs / Z. M. S. Naimi, E. A. Kalinina, A. E. Donnikov [et al.] // Obstetrics and gynecology. – 2015. – No. 11. – PP. 5-10.
3.Skriganyuk, A. A. antimullerov hormone / A. A. Skriganyuk, A. N. Kharlamova // Universum: medicine and pharmacology. – 2019. – № 1(56). – Pp. 16-18.
4.Shushakova, A.D. Methods of controlling violations of blood PH in cattle / A.D. Shushakova // Young researchers of agro–industrial and forestry complexes - regions: A collection of scientific papers on the results of the VIII All-Russian Scientific and Practical conference with international participation, Vologda-Molochnoye, April 20, 2023. Volume 3. – Vologda-Dairy: Vologda State Dairy Academy named after N.V. Vereshchagin, 2023. – pp. 242-245.
5.Alward, Kayla J, and Jillian F Bohlen. "Overview of Anti-Müllerian hormone (AMH) and association with fertility in female cattle." Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene vol. 55,1 (2020): 3-10. doi:10.1111/rda.13583.
6.Differential expression of anti-Müllerian hormone (amh) and anti-Müllerian hormone receptor type II (amhrII) // Developmental Dynamics 2007 Jan;236(1):271-81.
7.Gamarra, G et al. "Dietary propylene glycol and in vitro embryo production after ovum pick-up in heifers with different anti-Mullerian hormone profiles." Reproduction, fertility, and development vol. 27,8 (2015): 1249-61. doi:10.1071/RD14091.
8.Mossa, Francesca, and James J Ireland. "Physiology and endocrinology symposium: Anti-Müllerian hormone: a biomarker for the ovarian reserve, ovarian function, and fertility in dairy cows." Journal of animal science vol. 97,4 (2019): 1446-1455. doi:10.1093/jas/skz022.
9.Mycotoxin eliminator "Elitox" in lasttrimester pregnant cows application impact on immune blood profile of offspring / A. Kozitsyna, L. Karpenko, A. Bakhta [et al.] // Reproduction in Domestic Animals. – 2018. – Vol. 53, No. S2. – P. 153.
10.Pregnant Cows and Heifers Blood Profile Comparison / A. I. Kozitsyna, L. Yu. Karpenko, A. A. Bakhta [et al.] // International scientific and practical conference "Agro-SMART - Smart solutions for agriculture" (Agro-SMART 2018), Tyumen, July 16-20, 2018. Vol. 151. – Tyumen: Atlantis Press, 2018. – P. 391-396.

УДК: 636.2.034+636.08
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.4.227

ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭРИТРОПОЭЗА У СВИНОМАТОК В РАЗЛИЧНЫЕ ПЕРИОДЫ ПРОИЗВОДСТВЕННОГО ЦИКЛА

Воронина О. А.* – канд. биол.наук, ст. науч. сотр. гр. аналитической биохимии (ORCID 0000-0002-6774-4288); **Зайцев С. Ю.** – д-р хим. наук, д-р биол. наук, вед. науч. сотр., руководитель группы аналитической биохимии (ORCID 0000-0003-1533-8680)

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр животноводства - ВИЖ
имени академика Л.К. Эрнста»

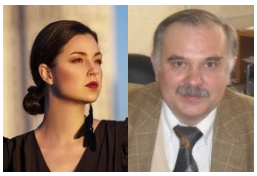
*voroninaok-senia@inbox.ru

Ключевые слова: *свиноматки, лабораторная диагностика, гематология, эритроциты, ретикулоциты*

Key words: *sows, laboratory diagnostics, hematology, erythrocytes, reticulocytes*

Финансирование: *Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант №20-16-00032-П (соглашение №20-16-00032-П от 15.05.2023 г) https://rscf.ru/project/20-16-00032/.*

Поступила:20.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Тактика периодического контроля гематологии свиноматок позволяет своевременно принимать меры по профилактике состояния анемии, которое неизбежно возникает, поскольку направленный отбор и селекция промышленных пород нацелены на многоплодие, что повышает риски возникновения анемии в период супоросности и подсосного периода. При периодическом и регулярном контроле, возможно выведение индивидуальных референтных интервалов гематологических показателей для конкретного животного и контроля отклика на компенсаторные мероприятия от чего напрямую зависит выход жизнеспособных поросят и их выживаемость. Целью данного исследования стало изучение числа эритроцитов, уровня гемоглобина, гематокрита, среднего объема эритроцитов и эритроцитарных индексов в зависимости от производственного цикла свиноматки. Группы были сформированы из свиноматок на 80 день супоросности (1 группа, n=5), после опороса (2 группа, n=5) и перед отъемом поросят (3 группа, n=5). Анализатор Vet ABCTM (Horiba Medical Польша) был использован. Подсчет ретикулоцитов методом «суправитальной окраски» раствором «бриллиантового крезилового синего». Статистическая обработка в программе «Microsoft Excel» (пакет «Анализ данных»), оценка достоверности различий на базе U критерия Манна—Уитни. В результате установлено, что средний объем эритроцита увеличивается со снижением их числа и концентрации гемоглобина, что вполне закономерно и свидетельствует о регенераторном ответе с появлением в крови ретикулоцитов. Коэффициент корреляции между эритроцитами и средним объемом эритроцита составил r=-0.53 (r^2=0.28, p=0.01), между средним объемом эритроцита и ретикулоцитами r=-0.50 (r^2=0.25, p=0.05). Достоверных различий среди групп по ретикулоцитам и среднему объему эритроцита не выявлено. Динамика и интенсивность регенерации умеренная во всех трех группах.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Гематологические референтные интервалы являются статистическим показателем, который ограничивает центральный 95% диапазон референтных значений [1]. Это значит, что уровень индивидуальности для таких интервалов достаточно низкий [1,2] поэтому установление референтных интервалов не только внутри конкретных лабораторий, но и внутри конкретных свиноводческих хозяйств, будет полезно производству. Особенно актуальна такая тактика для оценки здоровья и продуктивного долголетия свиноматок. Поскольку экономический потенциал свиноводства, как правило, повышается за счет увеличения размера помета и его внутриутробной выживаемости, что сопряжено с риском развития анемии, как у свиноматок, так и у потомства [3]. В большей степени это связано с физиологией эритропоэза, скорость которого ниже скорости потерь гемоглобина, связанных с супоросностью, опоросом и периодом выкармливания поросят [4,5,6]. По данным [7] примерно у 18% свиноматок на производстве установлена анемия, которая сказывается на выходе жизнеспособных поросят. В эксперименте [8] легкая и тяжелая железодефицитная анемия свиноматок приводила к снижению запасов тканевого железа, в том числе и у поросят [8]. Простой и своевременный мониторинг таких гематологических показателей, как: эритроциты (RBC), гемоглобин (HGB), гематокрит (HCT), средний объем эритроцита (MCV), среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), ширина распределения эритроцитов (RDW) и ретикулоциты (RTC) дает возможность вовремя принять необходимые меры по компенсации состояния анемии, если оно установлено [9]. Для качественного проведения диспансеризации маточных свиней и профилактики анемии рекомендуется адаптировать и актуализировать референтные интервалы гематологических показателей и установленные ранее нормативные значения [10] для супоросных свиноматок в условиях конкретных хозяйств [11]. Помимо перечисленных причин это связано с тенденцией к получению в свиноводстве межпородных гибридов [3,12]. В промышленных комбинациях часто используют двух и трех породное скрещивание самых разных мясных пород [12]. К примеру, высоким показателем многоплодия отличается сочетание гибридных свиноматок крупной белой (КБ) породы и породы ландрас (Л). Многоплодие двухпородных гибридных маток с хряками отцовской формы дюрок (Д) составляет в среднем 12,5 голов [13]. Свиноматки (КБ×Л) ×Д показывают самое высокое многоплодие – 12,9 голов [13]. При этом мало внимания уделяется контролю гематологических показателей полученных гибридов. В некоторых работах [14] внимание уделяется отдельным показателям – RBC и HGB, которые могут быть ложнозавышены при условии ограниченного доступа к воде, стрессе, физической нагрузке, возбуждении нервной системы [10,11]. С целью исключить ложное завышение, стоит оценивать полученные данные в комплексе с информацией о HCT, чтобы исключить обезвоживание и MCV, и чтобы оценить размер эритроцитов и рассчитать остальные эритроцитарные коэффициенты [15]. Поскольку макроцитоз эритроцитов скорее всего связан с появлением их юных форм – ретикулоцитов, а на развитие микроцитарной анемии требуется больше времени, что связано с причинами, скрытыми в регуляции процесса эритропоэза. Это может быть полезно в целях диагностики и выборе мер профилактики или лечения. К примеру, микроцитарная анемия, чаще, связана с дефицитом железа, реже меди или избытком в рационе цинка [11], хроническими воспалительными процессами, применением ингибиторов синтеза гема и т.д. Тактика компенсации установленного состояния с подробными данными гематологического исследования становится более ясной [2,16]. Кроме того, анемия супоросных свиноматок, чаще всего становится причиной нормохромной микроцитарной анемии у поросят [11,17], что сказывается на их выживаемости. Данные по исследованиям

гематологи свиноматок представлены в ряде литературных источников [15,18,19,20], что ещё раз подтверждает актуальность рассматриваемой тематики. Отсутствие возможности провести полноценное исследование всего поголовья в конкретном хозяйстве не должно служить препятствием к исследованию, так как ряд методов статистики позволяет исследовать малые выборки и получать достоверные статистически и клинически значимые результаты.

Целью данного исследования стало изучение числа эритроцитов, уровня гемоглобина, гематокрита, среднего объема эритроцитов и эритроцитарных индексов в зависимости от производственного цикла свиноматки.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования выполнены в 2021 году в свиноводческом комплексе, расположенном в с. Тропарево Можайского городского округа Московской области (ЗАО «Тропарево»). Группы были сформированы из свиноматок F1 (крупная белая×ландрас), в возрасте двух лет, на 80 день супоросности (1 группа, n=5), после опороса – начало лактации (2 группа, n=5), и перед отъемом поросят – 42 день лактации (3 группа, n=5). Отбор крови осуществляли из ушной вены в вакуумные пробирки [21]. Общий клинический анализ крови выполнен на автоматическом гематологическом анализаторе Vet ABCTM (Horiba Medical Польша). Подсчет ретикулоцитов осуществлялся микроскопическим методом после суправитальной окраски раствором бриллиантового крезилового синего (рисунок 2 и 3). Статистическая обработка выполнена в программе «Microsoft Excel» (пакет «Анализ данных»), оценка достоверности различий между группами выполнена на базе U критерия Манна—Уитни. При условии, что Uэксп ≤ Uэмп (4 для n=5) то установленные различия считались статистически значимыми [22]. Оценка коэффициентов корреляции проводилась методом квадратов Пирсона [23].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате проделанной работы, установлены средние значения эритроцитарных переменных для каждой группы (таблица 1). Достоверные различия между группами есть по таким показателям, как количество эритроцитов, гемоглобин и гематокрит. Для эритроцитов, гемоглобина и гематокрита получены сильные положительные корреляции (в расчет брали результаты по всем свиноматкам). Между эритроцитами и гемоглобином r=0.87 (r2=0.76, p=0.001), эритроцитами и гематокритом r=0.91 (r2=0.83, p=0.001), гемоглобином и гематокритом r=0.98 (r2=0.96, p=0.001). Остальные параметры достаточно стабильны и не различаются достоверно.

Средний объем эритроцита во второй и третьей группе увеличивается на 5,2% (3,4 фл) и 4,6% (3,0 фл) соответственно. Число эритроцитов уменьшается на 13,3% (1,2*10^12/l) во второй группе и на 20% (1,8*10^12/l) в третьей группе относительно первой. Гемоглобин снижается на 7,1% (7,5 г/л) во второй группе и на 17,8% (17 г/л) во второй группе по отношению к первой. Вероятно, это связано с умеренным регенераторном ответом и выбросом в кровоток ретикулоцитов, которые обладают большим объемом и содержат меньше гемоглобина, поскольку содержат рибосомы, продолжающие синтез и накопление белка. Чтобы оценить силу и направление взаимосвязи между числом эритроцитов и их средним объемом расчитали коэффициент корреляции (для всех данных, без деления на группы), который составил r=-0.53 (r2=0.28, p=0.01), между средним объемом эритроцита и ретикулоцитами r=-0.50 (r2=0.25, p=0.05). Достоверных различий среди групп по ретикулоцитам и среднему объему эритроцита не выявлено. Динамика и интенсивность регенерации, умеренная во всех трех группах.

На рисунке 1, отмечен уровень гемоглобина, который установлен для каждой свиноматки (5 свиниматок в каждой группе, соответствуют 5 точкам на графике в каждой из трех групп). Критические точ-

ки снижения уровня гемоглобина связаны в первую очередь с опоросом (и непосредственной потерей крови) и подсосным периодом, который требует перераспределения макро- и микронутриентов на синтез молока.

При оценке препаратов на малом увеличении агглютинатов эритроцитов, агрегатов лейкоцитов или аномальных клеток не обнаружено (рисунок 2 и рисунок 3). Морфология эритроцитов нормальная. В трех препаратах второй группы обнаружен анизоцитоз «++», еще в двух анизоцитоз «+». Во всех 5 препаратах третьей группы анизоцитоз «+». В препаратах первой группы анизацитоза не обнаружено.

Таблица 1 – Средние значения эритроцитарных переменных крови свиноматок

Показатели	1 группа	2 группа	3 группа
RBC, 10^12 ед/л	9,0±0,2	$7,8±0,2^{U=0}$	$7,2±0,2^{U=0}$
HGB, г/л	104,9±2,4	$97,4±2,3^{U=2}$	$87,1±3,8^{U=0}$
HCT, %	55,9±1,2	$51,2±1,0^{U=2}$	$47,1±1,6^{U=0}$
MCV, фл	62,6±0,4	66,0±1,4	65,6±1,4
MCH, пг	11,7±0,1	12,5±0,3	12,2±0,4
RDW, %	17,1±0,4	17,7±0,6	16,9±0,7
RTC, 10^9 ед/л	267,7±77,1	165,2±56,3	289,0±73,9

Примечание: достоверность различий установлена для второй и третьей группы относительно первой.

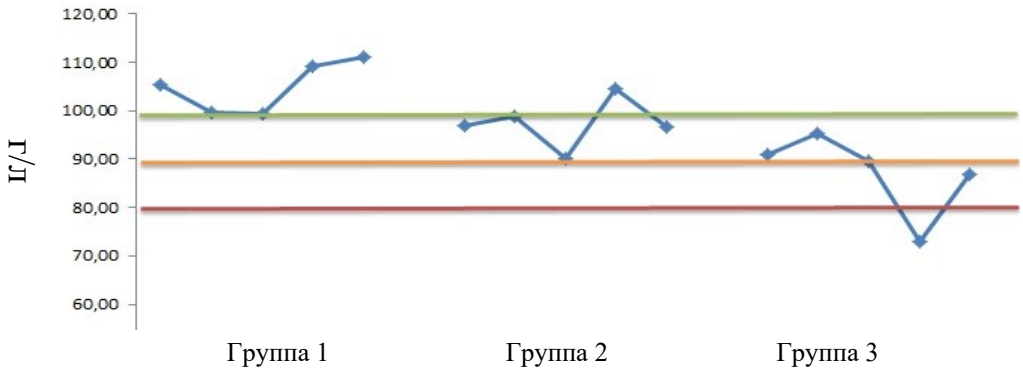


Рисунок 1 – Содержание гемоглобина в крови свиней: Верхняя линия содержания гемоглобина соответствует референтным интервалам характерным для нормы, средняя линия легкая степень анемии, нижняя линия анемия средней тяжести

Продолжительность жизни эритроцитов в период супоросности физиологически уменьшается в ответ на повышенный уровень эритропоэтина [18]. Его присутствие ускоряет вступление рубрибластов в первый митоз, стимулируя появление в крови ретикулоцитов сдвига. Эффект эритропоэтина связан с переключением пути апоптоза в предшественниках эритроцитов на путь активации пролиферации и созревания в костном мозге. В его присутствии гормоны щитовидной железы и гормоны роста усиливают рост эритроидных предшественников. Однако скорость образования эритроцитов идет параллельно с сокращением времени их жизни [18, 24]. В исследовании [8], показано, что свиноматки достаточно устойчивы к удалению крови, и для достижения стабильного уровня гемоглобина около 80 г/л требовалось несколько раз проводить забор крови.

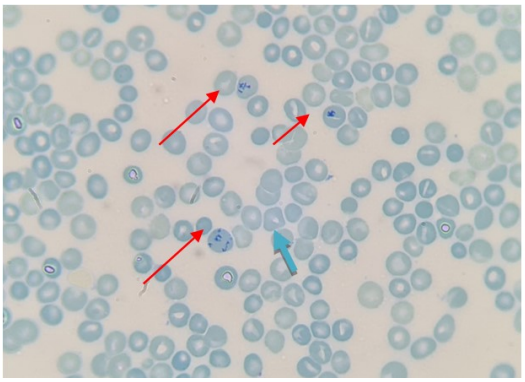


Рисунок 2 – Клетки крови свиноматки из группы 2. Суправитальная окраска пробирочным методом раствором бриллиантового крезилового синего. Иммерсионная микроскопия объектив ×100. Агрегатные ретикулоциты в препарате указаны красными стрелками, пунктатные синими.

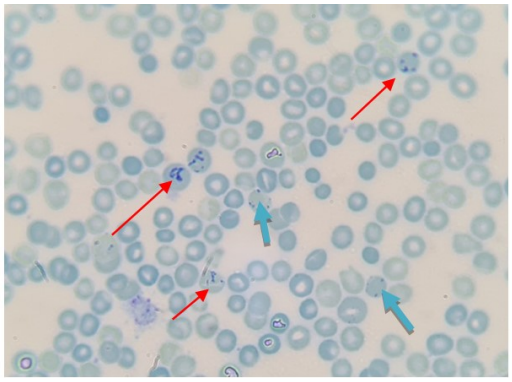


Рисунок 3 – Клетки крови свиноматки из группы 3. Суправитальная окраска пробирочным методом раствором бриллиантового крезилового синего. Иммерсионная микроскопия объектив ×100. Агрегатные ретикулоциты в препарате указаны красными стрелками, пунктатные синими.

Наблюдаемое нами в исследовании снижение уровня эритроцитов, гемоглобина и гематокрита тесно связано с физиологией супоросности и подсосным периодом. После родов прекращается усиление выработки эритропоэтина под действием плацентарного лактогена [18].

По оценке уровня ретикулоцитов можно заключить, что умеренный регенераторный ответ компенсирует последствия потери крови, которые связаны с опоросом и позволяет поддерживать количество эритроцитов на уровне 7,2±0,2 * 10^12/l в конце подсосного периода. При этом содержание гемоглобина в подсосный период падает в среднем еще на 10,3 г/л. Это связано с сокращением срока циркуляции эритроцитов, физиологией их удаления, сложным метаболизмом железа и приоритетом заботы о потомстве, который ведет к поддержанию физиологии свиноматки по остаточному принципу. В работе [20] указано, что примерно за две недели до родов количество эритроцитов у свиноматок снижается и продолжает снижаться до конца лактации, что сопоставимо с нашими результатами.

Поэтому так важно вести контроль гематологических показателей свиноматок и принимать своевременные меры по профилактике анемии. Поскольку обеспечение адекватного уровня эритроцитов, гемоглобина и гематокрита в период супоросности обеспечивает должный уровень развития поросят в пренатальный период, напрямую сказывается на их выживаемости и развитии в постнатальный период.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Снижение уровня эритроцитов, гемоглобина, гематокрита и других гематологических показателей тесно связано с физиологией гормональной регуляции во время супоросности, последующим опоросом и лактационным периодом. Контроль таких гематологических показателей, как число эритроцитов, количество гемоглобина и гематокрит наиболее эффективно при общем клиническом анализе крови для выявления состояния анемии. Поскольку средний объем эритроцита не изменялся достоверно от 80 дня супоросности до 42 дня подсосного периода и отъема поросят, рекомендуется оценивать степень регенераторного ответа при микроскопии. При этом стоит оценивать морфологию эритроцитов, выраженность анизоцитоза и количество ретикулоцитов.

CHARACTERISTICS OF ERYTHROPOIESIS IN SOWS IN DIFFERENT PERIODS OF THE PRODUCTION CYCLE

Voronina O.A.* – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of the Analytical Biochemistry Group (ORCID 0000-0002-6774-4288); **Zaitsev S.Yu.** – Doctor of Chemical Sciences, Doctor of Biological Sciences, leading researcher, Head of the Analytical Biochemistry Group (ORCID 0000-0003-1533-8680)

Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst

*voroninaok-senia@inbox.ru

Financing: *The studies were supported by the Russian Sci-ence Foundation, grant No. 20-16-00032-P (agreement No. 20-16-00032-P dated May 15, 2023) https://rscf.ru/project/20-16-00032/.*

ABSTRACT

The tactics of periodic monitoring of the hematology of sows allows timely measures to prevent anemia, which inevitably occurs, since the targeted screening and selection of industrial breeds are aimed at multiple births, which increases the risks of anemia during pregnancy and suckling period. With periodic and constant monitoring, it is possible to deduce individual reference intervals of hematological indicators for a particular animal and control the response to compensatory measures that directly affects the yield of viable piglets and their survival rate. The purpose of this study was to study the number of red blood cells, hemoglobin level, hematocrit, average volume of red blood cells and erythrocyte indices depending on the produc-tion cycle of the sow. The groups were formed from sows on the 80th day of preg-nancy (group 1, n=5), after farrowing (group 2, n=5) and before weaning piglets (group 3, n=5). The Vet ABCTM analyzer (Horiba Medical Poland) was used. Counting of reticulocytes by “supravital staining” with a solution of “brilliant cresyl blue”. Statistical processing in the Microsoft Excel program (Data Analysis package), evaluation of the reliability of differences based on the Mann—Whitney U criterion. As a result, it was found that the average volume of red blood cells increases with a decrease in their number and hemoglobin concentration, which is quite natural and indicates a regenerative response with the appearance of reticulocytes in the blood. The correlation coefficient between erythrocytes and the average volume of erythrocytes was r=-0.53 (r^2=0.28, p=0.01), between the average volume of erythrocytes and reticulocytes r=-0.50 (r^2=0.25, p=0.05). There were no significant differences among the groups in reticulocytes and the average volume of erythrocytes. The dynamics and intensity of regeneration are moderate in all three groups.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Евгина С.А., Савельев Л.И. Современные теория и практика референт-ных интервалов // Лабораторная служба. 2019. Т. 8, №. 2. С. 36-44. https://doi.org/10.17116/labs2019802136.

2. Zhang S., Yu B., Liu Q., Zhang Y., Zhu M., Shi L., Chen H. Assessment of Hematologic and Biochemical Parameters for Healthy Commercial Pigs in China // Animals. 2022. Т. 12, №. 18. С. 2464. https://doi.org/10.3390/ani12182464.

3. Freking B.A., Lents C.A., Vallet J.L. Selection for uterine capacity improves lifetime productivity of sows // Animal reproduction science. 2016. Т. 167, С. 16-21. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.01.018.

4. Kühl T., Imhof D. Regulatory feii/iii heme: The reconstruction of a mole-cule’s biography // ChemBioChem. 2014. Т. 15, №. 14. С. 2024-2035. https://doi.org/10.1002/cbic.201402218.

5. Стрижиков В.К., Сытько В.В. Морфо и гистохимические аспекты адаптации эритроцитов в крови свиней в ранние фазы постнатального периода онтогенеза // Известия ОГАУ. 2014. Т. 49, №. 5. С. 98-101.

6. Липунова Е.А., Скоркина М.Ю. Система красной крови: Сравнительная физиология: Монография. Белгород: Изд-во БелГУ, 2004. – 216 с.

7. Bhattarai S., Framstad T., Nielsen J. P. Stillbirths in relation to sow hematological

parameters at farrowing: A cohort study // J. Swine Health Prod. 2018. Т. 4, № 26. С. 215 –222.
8. Rydal M.P., Bhattarai S., Nielsen J.P. An experimental model for iron defi-ciency anemia in sows and offspring induced by blood removal during gestation // Animals. 2021. Т. 10, № 11. С. 2848. https:// doi.org/10.3390/ani11102848.
9. Bhattarai S., Framstad T., Nielsen J. P. Iron treatment of pregnant sows in a Danish herd without iron deficiency anemia did not improve sow and piglet hematology or still-birth rate // Acta Veterinaria Scandinavica. 2019. Т. 1, № 61. С. 1-9. https:// doi.org/10.1186/s13028-019-0497-6.
10. Siest G, Henny J, Gräsbeck R, Wilding P, Petitclerc C, Queraltó J, Petersen P. The theory of reference values: an unfinished symphony // CCLM. 2013. Т. 1, № 51. С. 47 -64. https://doi.org/10.1515/cclm-2012-0682.
11. Bhattarai, S., Framstad, T., Nielsen, J. P. Hematologic reference intervals of Danish sows at mid-gestation // Acta Veterinaria Scandinavica. 2019. Т. 61, С. 1-5. https:// doi.org/10.1186/s13028-019-0451-7.
12. Zaitsev S.Y., Belous A.A., Voronina O.A., Rykov R.A., Bogolyubova N.V. Correlations between antioxidant and biochemical parameters of blood serum of duroc breed pigs // Animals. 2021. Т. 11, №. 8. С. 2400. https://doi.org/10.3390/ani11082400.
13. Казанцева Н.П., Краснова О.А., Васильева М.И., Хардина Е.В. Воспроизводительные качества гибридных свиноматок при скрещивании с хряками породы дюрок // Аграрный вестник Урала. 2020. Т. 199, № 08. С. 43–50. https:// doi.org/10.32417/1997-4868-2020-199-8-43 -50.
14. Чернев И.Ф. Влияние генотипа хряков на гематологические и биохимические показатели крови у гибридных свиней // Розведення і генетика тварин. 2021. № 61. С. 186-191. https://doi.org/10.31073/ abg.61.21
15. Thorn C.E., Bowman A.S., Eckersall D. Hematology of Pigs. Schalm's veterinary hematology. 2022. С. 1019-1025.
16. Lillie R.J., Frobish L.T. Effect of copper and iron supplement on perfor-mance and hematology of confined sows and their progeny through four reproductive cycles // Journal of Animal Science. 1978. Т. 46, №. 3. С. 678-685. https://doi.org/10.2527/ jas1978.463678x.
17. Talbot R.B., Swenson M.J. Normochromic, microcytic anemia of baby pigs. American Journal of Veterinary Research. 1963. Т. 24. С. 39-41.
18. Сашнина Л. Ю. Шахов А.Г., Владимирова Ю.Ю., Тараканова К.В., Моргунова В.И. Изменения гематологических и биохимических показателей у свиноматок в период супоросности // Ученые записки учреждения образования витебская ордена знак почета государственная академия ветеринарной медицины. 2022. Т. 58, № 3. С. 142-145. https://doi.org/10.52368/2078-0109-2022-58-3-142-145.
19. Friendship R., Lumsden J.H., McMillan I., Wilson M.R. Hematology and biochemistry reference values for Ontario swine // Canadian journal of comparative medicine. 1984. Т. 48, №. 4. – С. 390.
20. Boulbria G., Costa C.T., Normand V. et al. Haematological reference intervals of sows at end gestation in ten French herds, the impact of parity on haematological parameters and the consequences on reproductive performance // Porc Health Manag. 2021. Т. 7, №. 1. С. 1-8. https:// doi.org/10.1186/s40813-021-00227-w.
21. Черных В. О., Мищенко А. В. Сравнительная оценка методов взятия крови от свиней // Ветеринария Кубани. 2013. №. 2. С. 10-11.
22. Фадейкина О.В., Волкова Р.А., Карпова Е.В. Статистическая обработка результатов аттестации биологических стандартных образцов: применение критерия Манна—Уитни // Химико-фармацевтический журнал. 2019. №. 53 (7). С. 54-58. https://doi.org/10.30906/0023-1134-2019-53-7-54-58.
23. Саадалов Т., Мырзаибраимов Р., Абдуллаева Ж.Д. Методика расчета коэффициента корреляции Фехнера и Пирсона, и их области применения // Бюллетень науки и практики. 2021. Т. 7, № 10. С. 270 -276. https://doi.org/10.33619/2414-

2948/71/31.
24. Lurie S., Mamet, Y. Red blood cell survival and kinetics during pregnancy // European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. 2000. Т. 93, №. 2. С. 185-192. https://doi.org/10.1016/S0301-2115(00)00290-6.

REFERENCES

1. Evgina SA, Saveliev LI. Current theory and practice of reference interval. Laboratory Service. 2019;2(8):36-44. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/labs2019802136
2. Zhang S., Yu B., Liu Q., Zhang Y., Zhu M., Shi L., Chen H. Assessment of Hematologic and Biochemical Parameters for Healthy Commercial Pigs in China. Animals. 2022;18(12):2464. https://doi.org/10.3390/ani12182464.
3. Freking B.A., Lents C.A., Vallet J.L. Selection for uterine capacity improves lifetime productivity of sows. Animal reproduction science. 2016; 167:16-21. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.01.018.
4. Kühl T., Imhof D. Regulatory feii/iii heme: The reconstruction of a mole-cule's biography. ChemBioChem. 2014;14 (15):2024-2035. https://doi.org/10.1002/cbic.201402218.
5. Strizhikov V.K., Syt'ko V.V. Morphological and histochemical aspects of erythrocytes adaptation in pigs blood at the early stages of postnatal ontogenesis. Izvestia Orenburg State Agrarian University. 2014;5 (49):98-101.
6. Lipunova E.A., Skorkina M.Yu. The red blood system: Comparative physiology: Monograph. Belgorod: BelSU Publishing House, 2004. – 216 p.
7. Bhattarai S., Framstad T., Nielsen J. P. Stillbirths in relation to sow hematological parameters at farrowing: A cohort study. J. Swine Health Prod. 2018;26(4): 215–222.
8. Rydal M.P., Bhattarai S., Nielsen J.P. An experimental model for iron defi-ciency anemia in sows and offspring induced by blood removal during gestation. Animals. 2021;11(10):2848. https://doi.org/10.3390/ani11102848.
9. Bhattarai S., Framstad T., Nielsen J. P. Iron treatment of pregnant sows in a Danish herd without iron deficiency anemia did not improve sow and piglet hematology or stillbirth rate. Acta Veterinaria Scandinavica. 2019;61(1):1-9. https://doi.org/10.1186/s13028-019-0497-6.
10. Siest G, Henny J, Gräsbeck R, Wilding P, Petitclerc C, Queraltó J, Petersen P. The theory of reference values: an unfinished symphony. CCLM. 2013;51(1): 47-64. https://doi.org/10.1515/cclm-2012-0682.
11. Bhattarai, S., Framstad, T., Nielsen, J. P. Hematologic reference intervals of Danish sows at mid-gestation. Acta Veterinaria Scandinavica. 2019; 61:1-5. https://doi.org/10.1186/s13028-019-0451-7.
12. Zaitsev S.Y., Belous A.A., Voronina O.A., Rykov R.A., Bogolyubova N.V. Correlations between antioxidant and biochemical parameters of blood serum of duroc breed pigs. Animals. 2021;8(11):2400. https://doi.org/10.3390/ani11082400.
13. Kazantseva N.P., Krasnova O.A., Vasilieva M.I., Khardina E.V. Reproductive qualities of hybrid sows at crossing with Duroc boars. Agrarian Bulletin of the Urals. 2020;8(199): 43–50. https://doi.org/10.32417/1997-4868-2020-199-8-43-50.
14. Chernev I.F. Influence of boor genotype on hematological and biochemical indicators of blood in hybrid pigs. Animal breeding and genetics. 2021; 61:186-191. https://doi.org/10.31073/abg.61.21.
15. Thorn C.E., Bowman A.S., Eckersall D. Hematology of Pigs. Schalm's veterinary hematology. 2022:1019-1025.
16. Lillie R.J., Frobish L.T. Effect of copper and iron supplement on perfor-mance and hematology of confined sows and their progeny through four reproductive cycles. Journal of Animal Science. 1978;3(46):678-685. https://doi.org/10.2527/jas1978.463678x.
17. Talbot R.B., Swenson M.J. Normochromic, microcytic anemia of baby pigs. American Journal of Veterinary Research. 1963; 24:39-41.
18. Sashnina L.Yu., Shakhov A.G., Vladimirova Yu.Yu., Tarakanova K.V., Morgunova V.I. Changes in hematological and biochemical indicators in sows during gestation. Scientific notes of the educational institution

Vitebsk Order Badge of Honor State Academy of Veterinary Medicine. 2022;58,3 (58):142-145. https://doi.org/10.52368/2078-0109-2022-58-3-142-145.
19. Friendship R., Lumsden J.H., McMillan I., Wilson M.R. Hematology and biochemistry reference values for Ontario swine. Canadian journal of comparative medicine. 1984;4(48):390.
20. Boulbria G., Costa C.T., Normand V. et al. Haematological reference intervals of sows at end gestation in ten French herds, the impact of parity on haematological parameters and the consequences on reproductive performance. Porc Health Manag. 2021;1(7):1-8. DOI: https://doi.org/10.1186/s40813-021-00227-w
21. Mishchenko A.V., Chernykh V.O. Comparative estimation of blood sam-pling methods in pigs. Veterinary Kuban. 2013; 2:10-11.
22. Fadeikina O.V., Volkova R.A., Karpova E.V. Statistical processing of the results of certification of biological standard samples: application of the Mann – Whitney criterion. Pharmaceutical Chemistry Journal. 2019;53 (7):54-58. https://doi.org/10.30906/0023-1134-2019-53-7-54-58.
23. Saadalov T., Myrzaibraimov R., Abdullaeva Zh. Calculating Procedure for the Correlation Coefficient of Fechner and Pearson and Their Application Areas. Bulletin of Science and Practice. 2021;10(7):270-276. https://doi.org/10.33619/2414-2948/71/31.
24. Lurie S., Mamet, Y. Red blood cell survival and kinetics during pregnan-cy. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. 2000;2(93):185-192. https://doi.org/10.1016/S0301-2115(00)00290-6

УДК: 639.3.091:612.11/.12(476)
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.236

АНАЛИЗ ВОЗРАСТНОЙ ДИНАМИКИ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ ФОРЕЛИ РАДУЖНОЙ В УСЛОВИЯХ АКВАКУЛЬТУРЫ

Карпенко Л.Ю.[1] – д-р биол. наук, проф., зав. каф. биохимии и физиологии; **Сидорова Н.А.**[2] – канд. биол. наук, доц., доц. каф. зоологии и экологии; **Полистовская П.А.**[1] – канд. биол. наук, доц. каф. биохимии и физиологии; **Бахта А.А.**[1] – канд. биол. наук, доц., доц. каф. биохимии и физиологии; **Савушкин А.И.**[2] – науч. сотр.; **Бабич О.О.**[3] – д-р техн. наук, доц.; **Сухих С.А.**[3] – д-р техн. наук, доц., зав. лабораторией микробиологии и биотехнологии; **Никонов И.Н.**[3] – канд. биол. наук, ст. науч. сотр.

[1] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
[2] ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет»
[3] ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени И. Канта»

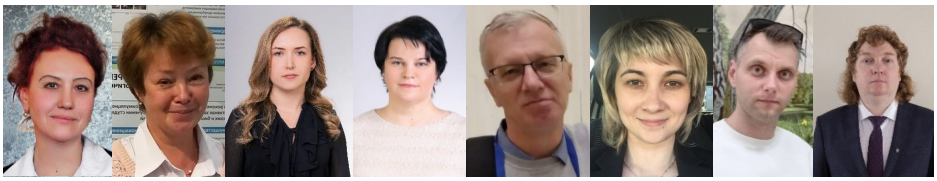
* l.u.karpenko@mail.ru

Ключевые слова: *аквакультура, гематологические показатели, мониторинг, радужная форель, физиологическое состояние рыб.*

Keywords*: aquaculture, hematological indicators, monitoring, rainbow trout, physiological state of fish.*

Благодарность. *Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 322-23 (Соглашение № 23-16-20026), проводимого совместно с Республикой Карелия с финансированием из Фонда венчурных инвестиций Республики Карелия (ФВИ РК).*

Поступила: 16.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Радужная форель (Parasalmo mykiss) − перспективный вид аквакультуры с одним из самых больших производственных потенциалов на территории России. Лидирующие позиции по садковому форелеводству в настоящее время занимает Республика Карелия, поставляющая на внутренний рынок более 80 % товарной форели, производимой в Российской Федерации. Увеличение выпуска продукции аквакультуры является важным условием поддержки продовольственной безопасности России и обеспечения социально-экономического развития регионов. Учитывая скорость распространения за-

болеваний у садковой форели, быструю смену фаз иммунного ответа у рыб, а также расположение хозяйств в малонаселенных удаленных районах, особенно актуальными остаются исследования, посвященные поиску чувствительных молекулярных методов экспресс-диагностики, позволяющих выявить возбудителя на ранних стадиях инфекционного процесса для выработки рациональной тактики лечения и профилактики. Целью представленного исследования был мониторинг состояния форели радужной в онтогенезе на основе гематологических исследований. В ходе проведенного исследования достоверные (P<0,05) различия были отмечены по количеству эритроцитов и общему количеству лейкоцитов (TLC), в зависимости от пола рыб. Кроме того, четко различимые морфометрические признаки были также замечены среди эритроцитов, лейкоцитов (лимфоцитов, нейтрофилов и моноцитов) и тромбоцитов. Таким образом, в ходе проведенного мониторинга физиологического состояния форели радужной в условиях аквакультуры было установлено, что с возрастом ухудшается состояние организма рыб, что отражается на морфологических показателях крови. Содержание гемоглобина варьировало в широких пределах. Снижение его концентрации свидетельствует об острой кровопотере и гемолитических анемиях. Полученные результаты являются основанием для разработки новых перспективных природных адаптогенов, нормализующих физиологическое состояние рыб и обеспечивающих получение биобезопасной продукции форелеводства.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Радужная форель (*Parasalmo mykiss*) – перспективный вид аквакультуры с одним из самых больших производственных потенциалов на территории России. Лидирующие позиции по садковому форелеводству в настоящее время занимает Республика Карелия, поставляющая на внутренний рынок более 80 % товарной форели, производимой в Российской Федерации. Увеличение выпуска продукции аквакультуры является важным условием поддержки продовольственной безопасности России и обеспечения социально-экономического развития регионов. Особенно перспективно развитие аквакультуры для Северо-Западного региона и Сибири, в связи с благоприятными условиями среды для выращивания ценных пород лососевых рыб. Одним из ключевых факторов устойчивого функционирования форелевых хозяйств является своевременное и эффективное предупреждение возникновения и распространения заболеваний у выращиваемых рыб.

Учитывая скорость распространения заболеваний у садковой форели, быструю смену фаз иммунного ответа у рыб, а также расположение хозяйств в малонаселенных удаленных районах, особенно актуальными остаются исследования, посвященные поиску чувствительных молекулярных методов экспресс-диагностики, позволяющих выявить возбудителя на ранних стадиях инфекционного процесса для выработки рациональной тактики лечения и профилактики [12,17]. Особенно важно оперативно принять решение о применении антибиотиков, которое влечет за собой трудовые и финансовые затраты, а также оказывает долговременные негативные последствия на экосистему всего водоема. Применение антибиотикотерапии оправдано при подтвержденной бактериальной природе заболевания, однако в связи с тем, что анализ требует значительного времени, распространена практика превентивная обработка рыб антибиотиками широкого спектра действия при первых признаках развития инфекции [15,17,18]. Подобные меры могут быть не эффективны, а также могут провоцировать возникновение на хозяйстве антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов.

Таким образом, комплексный гематологический анализ радужной форели в онтогенезе является актуальным направлением [16]. Гематологический мониторинг у разных возрастных групп необходим для разработки лечебных и профилактических добавок к комбикормам для повышения продуктивности и увеличения резистентности форели радужной в усло-

виях аквакультуры, оптимизации технологии применения, обеспечивающей получение биобезопасной продукции [11, 13].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В представленном исследовании проведено изучение физиологического статуса в условиях рыбного хозяйства Республики Карелия. Исследование проводилось в июле-августе 2024 г на 4-х возрастных группах радужной форели (*Parasalmo mykiss* Walbaum, 1792) семейства лососевые – Salmonidae, род лососи – Salmo Linne.

Целью представленного исследования был мониторинг состояния форели радужной в онтогенезе на основе гематологических исследований.

Все исследования с рыбой проводили в соответствии с международным этическим стандартом, изложенным в Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в других научных целях, а также согласно требованиям, изложенным в заключении Комитета по этике в области исследований на животных Петрозаводского государственного университета № 274 от 7 мая 2020 года.

Для определения гематокритной величины (гематокрита) микрокапилляры, прилагаемые к центрифуге, обрабатывали раствором антикоагулянта, заполняли капилляр кровью полностью, центрифугировали до получения постоянного объёма эритроцитов. Приготавливали препараты (мазки) крови. Предметные стёкла тщательно промывали, затем обезжиривали смесью спирта и эфира, протирали насухо чистой тканью. Взятую от рыбы кровь с помощью пипетки наносили в виде небольшой капли на предметное стекло на расстоянии 1-1,5 см от края, шлифованным готовили тонкий мазок, высушивали на воздухе, подписывали, фиксировали раствором Май-Грюнвальда и окрашивали по Романовскому. Идентификацию клеток крови выполняли по рекомендованным атласам клеток крови Н. Т. Ивановой (1982) [9], изменения форменных элементов – согласно методическим указаниям Л. Д. Житеневой (1989) [7]. Анализ окрашенных препаратов крови проводили с использованием оптического микроскопа Motic DM-BA-30 при увеличении ×1000 с применением иммерсии. По результатам микроскопирования идентифицировали и рассчитывали процентное соотношение лимфоцитов к общему количеству клеток крови. Фотографии клеток крови выполняли с помощью микроскопа Motic DM-BA-30, оснащенного цифровой камерой MoticamPro и программой MoticImages Advanced 3.2.

При изучении картины крови определяли процентное соотношение лимфоцитов к общему числу клеток: эритроцитов, нейтрофилов, моноцитов и базофилов. К лимфоцитам относили сине-голубые клетки с плотным фиолетовым, децентрированным ядром, которое занимало основную часть клетки. Узкий слой резкобазофильной цитоплазмы не всегда образовывал сплошные обрамления вокруг ядра, цитоплазма может быть прерывистой и образовывать выпуклости наподобие псевдоподий [8, 14].

Статистическая обработка полученных данных включала вычисление среднего арифметического, определение стандартного отклонения, расчет достоверности по Стьюденту [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты гематологического анализа форели исследуемых возрастных групп представлены на рисунках 1-2. В возрастной группе 1+ гематокрит (Hct) находился в диапазоне 14-40%, гемоглобин - 5.11 –8.09 г/мл, количество красных кровяных телец (RBC) - 0.67–0.92 ($\times 10^{6/}$мм^3); параметры лейкоцитов ($\times 10^3$/мм^3): общее количество лейкоцитов - 23.45–39.16, нейтрофилы - 4,11–6.70, общее количество лимфоцитов -9.06–24.12, моноциты 1,22–7,56; количество тромбоцитов 17.4–31.9 ($\times 10^6$/мм^3).

В группе двухлеток форели гематокрит (Hct) изменялся от 29 до 38%, гемоглобин - от 6.4 до 9.9 г/мл, количество красных кровяных телец (RBC) - от 1.05 до 1.21 ($\times 10^{6/}$мм^3); параметры лейкоцитов

(× 10^3/мм^3): общее количество лейкоцитов - от 17 до 36, нейтрофилов - от 5 до 9, общее количество лимфоцитов -от 34 до 44, моноцитов от 1 до 4.1; количество тромбоцитов – от 34.26 до 41.5 (×10^6/мм^3).

В группе трехлеток форели гематокрит (Hct) изменялся от 17 до 38%, гемоглобин - от 6.0 до 10.6 г/мл, количество красных кровяных телец (RBC) - от 0.64 до 1.06 (×10^6/мм^3); параметры лейкоцитов (× 10^3/мм^3): общее количество лейкоцитов - от 17.2 до 64.0, нейтрофилов - от 7.3 до 17.24, общее количество лимфоцитов - от 19.1 до 42, моноцитов от 1.1 до 7.3; количество тромбоцитов – от 12.8 до 48.9 (×10^6/мм^3).

В возрастной группе 4+ гематокрит (Hct) находился в диапазоне 29.4-39.6%, гемоглобин - 7.03–9.05 г/мл, количество красных кровяных телец (RBC) - 0.9–1.1 (×10^6/мм^3); параметры лейкоцитов (× 10^3/мм^3): общее количество лейкоцитов - 13.5 –29.2, нейтрофилы - 2.1–4.1, общее количество лимфоцитов -9.1–24.12, моноциты 0.4–2.13; количество тромбоцитов 34.5–44.2 (×10^6/мм^3).

Среди всех измеренных гематологических переменных было обнаружено, что Hct был выше (P <0.05) у четырехлетних особей форели 32.79% по сравнению с другими возрастными группами. Напротив, общее количество гемоглобина (Hb), было сравнительно одинаковым и изменялось от 6.6 г/л (возрастная группа 1+) до 8.1 г/л (возрастная группа 3+).

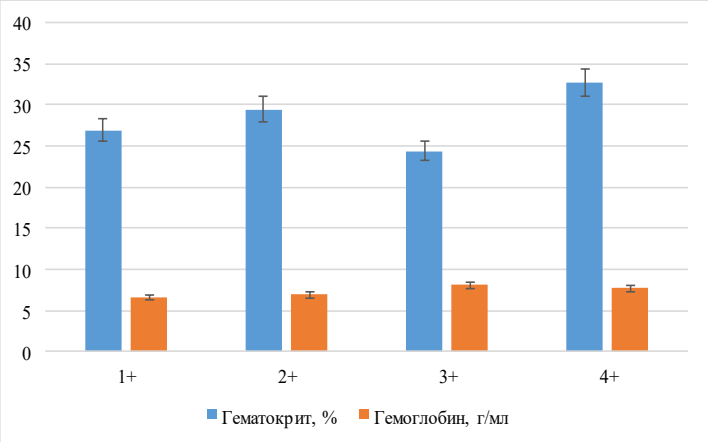


Рисунок 1 – Изменение величины гематокрита и гемоглобина в исследуемых возрастных группах радужной форели

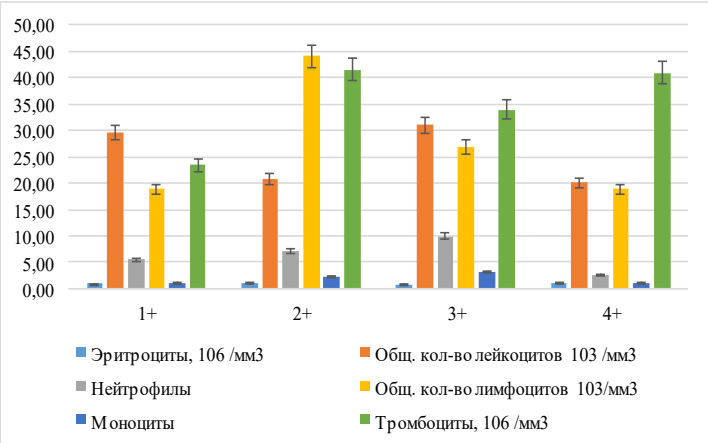


Рисунок 2 – Изменение абсолютного числа форменных элементов крови

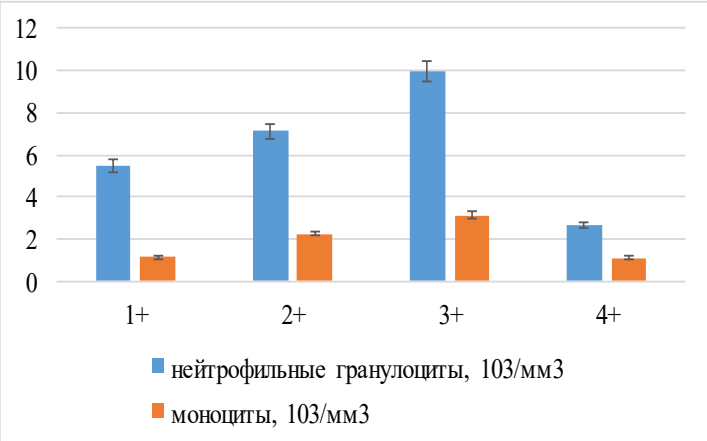


Рисунок 3 – Изменение количества фагоцитирующих клеток в крови исследуемых групп радужной форели

В исследуемых возрастных группах радужной форели. Среди фагоцитов исследована динамика популяции микрофагов/нейтрофильных гранулоцитов и макрофагов /моноцитов крови, моноцитарного происхождения. Необходимо отметить, что у изученных популяций фагоцитов существуют выраженные функциональные отличия, которые оказывают большое влияние на иммунный ответ, что зависит от особенностей рецепторных аппаратов клеток. Кроме того, микрофаги способны контролировать внеклеточный киллинг бактериальных антигенов за счет кислородных радикалов или дегрануляции посредством функциональной активности лактоферина, лизоцима, катионных белков, протеиназы, катепсина G или дефенсинов [1-2]. Экспериментально доказано, что лейкоциты рыб преимущественно играют иммунологическую роль в борьбе с инфекцией, поэтому их абсолютное количество может служить важным диагностическим инструментом для мониторинга здоровья рыб [2-3], хотя на их количество влияют многочисленные факторы, включая стресс, возраст, пол, условия культивирования [4]. В результате выполненного исследования обнаружено, что лимфоциты (малые и крупные) образуют доминирующий тип клеток, на долю которых приходится почти> 50% от общего количества лейкоцитов. Наибольшее количество лейкоцитов обнаружено для возрастной группы форели 2+ и составило - 44´10^3/мм^3, а наименьшее - для возрастной группы форели 4+ и составило - 19´10^3/мм3. Как правило, лимфоциты у рыб в изобилии содержатся в периферической крови, по сравнению с млекопитающими, где они в основном находятся в тканях, однако в условиях стресса рыбы наблюдается лимфопения или сниженное количество лимфоцитов [5-6]. Необходимо подчеркнуть, что на момент исследования периферическая кровь радужной форели не содержала других типов гранулоцитов, таких как базофилы, а эозинофилы встречались единично.

Изменение количества нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов крови разных возрастных групп радужной форели на момент исследования представлено на гистограмме с группировкой (рис. 3).

ВЫВОДЫ / CONCLUSIONS

Таким образом, в ходе проведенного мониторинга физиологического состояния форели радужной в условиях аквакультуры было установлено, что с возрастом ухудшается состояние организма рыб, что отражается на гематологических показателях крови. Содержание гемоглобина варьировало в широких пределах. Снижение его концентрации свидетельствует об острой кровопотере и гемолитических анемиях.

Полученные результаты являются основанием для разработки новых перспек-

тивных природных адаптогенов, нормализующих физиологическое состояние рыб и обеспечивающих получение биобезопасной продукции форелеводства.

ANALYSIS OF AGE DYNAMICS OF MORPHOLOGICAL INDICATORS OF THE BLOOD OF RAINBOW TROUT UNDER AQUACULTURE CONDITIONS

Karpenko L.Yu. – D. Biol. sc., Professor; **Sidorova N.A.** – Cand. of Biol. Sc., Assoc. Professor; **Polistovskaya P.A.** – Cand.biol.sc., Assoc. Professor; **Bakhta A.A.** – Cand.biol.sc., Assoc. Professor; **Savushkin A.I.** – Researcher; **Babich O. O.** – D.Technical sc., Docent; **Sukhikh S.A.** – D. Technical sc., Docent; **Nikonov I.N.** – Cand.biol.sc.,

[1] St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

[2] Petrozavodsk State University

[3] Immanuel Kant Baltic Federal University

* l.u.karpenko@mail.ru

Gratitude. *The research was supported by a grant from the Russian Science Foundation No. 322-23 (Agreement No. 23-16-20026), conducted jointly with the Republic of Karelia with funding from the Venture Capital Investment Fund of the Republic of Karelia (FVI RK).*

ABSTRACT

Rainbow trout (Parasalmo mykiss) is a promising type of aquaculture with one of the largest production potentials in Russia. The Republic of Karelia currently holds a leading position in cage trout farming, supplying more than 80% of commercial trout produced in the Russian Federation to the domestic market. Increasing the output of aquaculture products is an important condition for supporting Russia's food security and ensuring the socio-economic development of the regions. Given the rate of spread of diseases in trout, the rapid change of phases of the immune response in fish, as well as the location of farms in sparsely populated remote areas, research remains particularly relevant on the search for sensitive molecular methods of rapid diagnosis that identify the pathogen in the early stages of the infectious process to develop rational treatment and prevention tactics. The purpose of the presented study was to monitor the condition of rainbow trout in ontogenesis based on hematological studies. During the study, significant ($P<0.05$) differences were noted in the number of red blood cells and the total number of white blood cells (TLC), depending on the sex of the fish. In addition, clearly distinguishable morphometric features were also seen among erythrocytes, leukocytes (lymphocytes, neutrophils and monocytes) and platelets. Thus, during the monitoring of the physiological state of rainbow trout in aquaculture conditions, it was found that the condition of the fish body worsens with age, which affects the morphological parameters of the blood. The hemoglobin content varied widely. A decrease in its concentration indicates acute blood loss and hemolytic anemia. The results obtained are the basis for the development of new promising natural adaptogens that normalize the physiological state of fish and ensure the production of biosafety trout products.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Chatzifotis S., Muje P., Pavlidis M., Ågren J., Paalavuo M., Mölsä H. Evolution of tissue composition and serum metabolites during gonadal development in the common dentex Dentex dentex) // Aquaculture. 2004. № 236. P. 557-573.

2.Chen H., Yuan G., Su J., Liu X. Hematological analysis of Ctenopharyngodon idella, Megalobrama amblycephala and Pelteobagrus fulvidraco: Morphology, ultrastructure, cytochemistry and quantification of peripheral blood cells // Fish Shellfish Immunol., 2019. № 90. P. 376-384.

3.Fazio F. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: a review // Aquaculture, 2019. № 500. P. 237-242.

4.Jansson M., Olsson H., Pettersson K/ Phosphatases, origin, characteristics and function in lakes // Hydrobiologia. 1988. Vol. 170. P. 157-175.

5.Nabi N., Ahmed I., Wani G.B. Hematological and serum biochemical reference inter-

vals of rainbow trout, Oncorhynchus mykiss cultured in Himalayan aquaculture: Morphology, morphometrics and quantification of peripheral blood cells // Saudi Journal of Biological Sciences, 2022. Vol. 29 (4). P. 294.
6.Valenzuela A.E., Silva V.M., Klempau A.E. Effects of different artificial photoperiods and temperatures on haematological parameters of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) // Fish Physiol. Biochem., 2008. № 34. P. 159-167.
7.Житенева Л. Д. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб / Л. Д. Житенева, Т. Г. Полтавцева, О. А. Рудницкая. Ростов-на-Дону, 1989. 112 с.
8.Зубрихина Г. Н., Блиндарь В. Н., Тимофеев Ю. С. Теория и практика лабораторных гематологических исследований: учебник. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. - 288 с.
9.Иванова, Н.Т. Атлас клеток крови рыб (сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб). М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982. 184 с.
10.Ивантер Э. В., Коросов А. В. Элементарная биометрия, Петрозаводск: Издательство ПетрГУ, 2005. 104 с.
11.Изучение экосистем рыбохозяйственных водоемов, сбор и обработка данных о водных биологических ресурсах, техника и технология их добычи и переработки. Выпуск 5. Наставления для наблюдателей (ихтиология). - М.: Изд-во ВНИРО, 2006. - 84 с.
12.Крайнюк В. Н. Динамика индексов печени и селезенки у плотвы Rutilus rutilus (L., 1758) (Cyprinidae) из системы канала им. К. Сатпаева в зимний и преднерестовой периоды // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. 2016. - № 1. - С. 44-47.
13.Мамонтов, И. Ю. Российское форелеводство и перспектива развития / И. Ю. Мамонтов // Наука без границ. – 2021. – №1 (53). – С. 55-59.
14.Меньшиков, В. В. Клинический диагноз — лабораторные основы. / В.В. Меньшиков – М.: Изд-во "Лабинформ", 1997. – 320 с.
15.Нормативы качества водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения. - М.: Изд-во ВНИРО, 2011. - 257 с.
16.Пищенко Е. В. Гематология пресноводных рыб: Учеб. пособие. Новосибирск: Новосиб. Гос. аграр. ун-т. 2003. 48 с.
17.Полистовская, П. А. Влияние цинка на гематологические показатели карпа / П. А. Полистовская, Л. Ю. Карпенко, А. И. Енукашвили [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2019. – Т. 240. – № 4. – С. 151-154.
18.Померанцев, Д. А. Актуальные вопросы состояния аквакультуры в Ленинградской области / Д. А. Померанцев, Н. А. Семененко // Роль и место инноваций в сфере агропромышленного комплекса: материалы Всероссийской (национальной) научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора А.А. Сысоева, Курск, 20 ноября 2019 года. – Курск: Курская государственная сельскохозяйственная академия им. профессора И.И. Иванова, 2020. – С. 146-149.

REFERENCES

1.Chatzifotis S., Muje P., Pavlidis M., Ågren J., Paalavuo M., Mölsä H. Evolution of tissue composition and serum metabolites during gonadal development in the common dentex Dentex dentex) // Aquaculture. 2004. No. 236. pp. 557-573.
2.Chen H., Yuan G., Su J., Liu X. Hematological analysis of Ctenopharyngodon idella, Megalobrama amblycephala and Pelteobagrus fulvidraco: Morphology, ultrastructure, cytochemistry and quantification of peripheral blood cells // Fish Shellfish Immunol., 2019. No. 90. Pp. 376-384.
3.Fazio F. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: a review // Aquaculture, 2019. No. 500. pp. 237-242.

4.Jansson M., Olsson H., Pettersson K/ Phosphatases, origin, characteristics and function in lakes // Hydrobiologia. 1988. Vol. 170. P. 157-175
5.Nabi N., Ahmed I., Wani G.B. Hematological and serum biochemical reference intervals of rainbow trout, Oncorhynchus mykiss cultivated in Himalayan aquaculture: Morphology, morphometrics and quantification of peripheral blood cells // Saudi Journal of Biological Sciences, 2022. Vol. 29 (4). p. 294.
6.Valenzuela A.E., Silva V.M., Klempau A.E. Effects of different artificial photoperiods and temperatures on haematological parameters of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) // Fish Physiol. Biochem., 2008. No. 34. pp. 159-167.
7.Zhiteneva L. D. Atlas of normal and pathologically altered fish blood cells / L. D. Zhiteneva, T. G. Poltavtseva, O. A. Rudnitskaya. Rostov-on-Don, 1989. 112 p.
8.Zubrikhina G. N., Blindar V. N., Timofeev Y. S. Theory and practice of laboratory hematology research: textbook. M.: GEOTAR-Media, 2020. - 288 p.
9.Ivanova, N.T. Atlas of fish blood cells (comparative morphology and classification of shaped elements of fish blood). M.: Light and food industry, 1982. 184 p.
10.Ivanter E. V., Korosov A.V. Elementary biometrics, Petrozavodsk: PetrSU Publishing House, 2005. 104 p.
11.Study of ecosystems of fishery reservoirs, collection and processing of data on aquatic biological resources, technology and technology of their extraction and processing. Issue 5. Instructions for observers (ichthyology). - M.: VNIRO Publishing House, 2006. - 84 p.
12.Kraynyuk V. N. Dynamics of liver and spleen indices in roach Rutilus rutilus (L., 1758) (Cyprinidae) from the K. Satpayev canal system in winter and pre-spawning periods // Actual problems of humanities and natural sciences. 2016. - No. 1. - pp. 44-47.
13.Mamontov, I. Yu. Russian trout farming and development prospects / I. Yu. Mamontov // Science without borders. – 2021. – №1 (53). – Pp. 55-59.
14.Menshikov, V. V. Clinical diagnosis — laboratory fundamentals. / V.V. Menshikov – M.: Publishing house "Labinform", 1997. – 320 p.
15.Standards for the quality of water bodies of fisheries importance, including standards for maximum permissible concentrations of harmful substances in the waters of water bodies of fisheries importance. - M.: VNIRO Publishing House, 2011. - 257 p.
16.Pishchenko E. V. Hematology of freshwater fish: Textbook. Novosibirsk: Novosibirsk State Agrarian University. univ. 2003. 48 p.
17.Polistovskaya, P. A. The influence of zinc on hematological parameters of carp / P. A. Polistovskaya, L. Y. Karpenko, A. I. Enukashvili [et al.] // Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. – 2019. – Vol. 240. – No. 4. – pp. 151-154.
18.Pomerantsev, D. A. Topical issues of the state of aquaculture in the Leningrad region / D. A. Pomerantsev, N. A. Semenenko // The role and place of innovations in the field of agro-industrial complex: materials of the All -Russian (national) scientific and practical conference dedicated to the 100th anniversary of the birth of Professor A.A. Sysoev, Kursk, November 20, 2019 of the year. – Kursk: Kursk State Agricultural Academy named after Professor I.I. Ivanov, 2020. – pp. 146-149.

УДК: 611.019: 611.636
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.244

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ ЕЖА ОБЫКНОВЕННОГО В СВЯЗИ С ИХ ТИПОМ ПИТАНИЯ

Глушонок С.С.* – канд. ветеринар. наук, асс. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0002-8972-4376); **Зеленевский Н.В.** – д-р ветеринар. наук, проф. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0001-6679-6978).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* sunflower.92@mail.ru

Ключевые слова: *ёж обыкновенный, нижняя челюсть, остеология, морфология, анатомия.*

Key words: *hedgehog, lower jaw, osteology, morphology, anatomy.*

Поступила: 27.09.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Учитывая рацион питания ежа обыкновенного, перед нами встал вопрос об особенностях строения жевательного аппарата ежей обыкновенных. Нами было решено изучить и установить анатомо-топографические и морфометрические особенности строения нижней челюсти у ежа обыкновенного. Цель нашего исследования – изучить анатомо-топографические особенности строения нижней челюсти ежа обыкновенного, связанные с типом питания, а также установить морфометрические данные мандибулярного аппарата. Для изучения анатомо-топографических особенностей строения нижнечелюстной кости данной особи, было получено пять трупов ежа обыкновенного из лесничества Ленинградской области. Все представители данного вида были половозрелого возраста. В результате наших исследований мы установили анатомо-топографические особенности строения нижней челюсти ежа обыкновенного, связанные с типом питания, а также определили морфометрические данные мандибулярного аппарата. По итогам исследования мы пришли к выводу, что у ежа обыкновенного, очень мощная и хорошо развитая нижняя челюсть, которая состоит из тела и ветви. Коренная часть тела нижнечелюстной кости длиннее резцовой части в 2,10 раза, а по ширине они почти равны. Данный факт говорит о мощности сжатия как резцовых, так и коренных зубов во время откусывания и жевания твердой пищи. На резцовой части располагаются резцовые зубы в количестве четырех штук, на коренной части тела расположены коренные зубы в виде моляров и премоляров с общим количеством четырех штук. Благодаря этому ежи способны легко захватывать пищу, лежащую на поверхности земли и тщательно пережевывать. Ветвь нижней челюсти имеет хорошо развитые отростки, благодаря которым происходит формирование крепких суставов и надежное прикрепление мышц во время акта жевания. На латеральной поверхности ветви нижней челюсти имеется хорошо выраженное углубление, которое формирует ямку большой жевательной мышцы, это безусловно говорит о наличии сильно развитых жевательных мышц у данного животного.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Ёж обыкновенный широко распространённое животное на территории Российской Федерации, они плотно заселяют Западную и Центральную Европу. Основу их питания составляют насекомые и дождевые черви. Когда основного рациона питания у ежей не хватает, они расширяют его за счёт употребления слизней и улиток, в редких случаях могут поедать змей и мышей. Незначительную часть рациона питания у ежей могут составлять лесные ягоды и фрукты.

Учитывая рацион питания данного животного, перед нами встал вопрос об особенностях строения жевательного аппарата ежей обыкновенных. Нами было решено изучить и установить анатомо-топографические и морфометрические особенности строения нижней челюсти у ежа обыкновенного. Ведь для поедания такой твердой и грубой пищи данное животное должно иметь мощные челюсти и зубы.

Цель нашего исследования – изучить анатомо-топографические особенности строения нижней челюсти ежа обыкновенного, связанные с типом питания, а также установить морфометрические данные мандибулярного аппарата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHOD

Исследования проводили на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Для изучения анатомо-топографических особенностей строения нижнечелюстной кости данной особи, было получено пять трупов ежа обыкновенного из лесничества Ленинградской области. Все представители данного вида были половозрелого возраста, средний вес составлял – 798,15±15,32 г. Кости нижней челюсти ежа обыкновенного были получены нами по общепринятой методике мацерации мягких тканей, с последующей механической очисткой костей, обезжириванием, отбеливанием и высушиванием. Морфометрию нижнечелюстной кости проводили с использованием штангенциркуля марка Tamo professional с ценой деления 0,01 мм. Для изучения особенностей строения нижнечелюстной кости был осуществлен комплекс общепринятых анатомических методик, включающий тонкое анатомическое препарирование, фотографирование.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В ходе нашего исследования было установлено, что нижняя челюсть (mandibula) ежа обыкновенного – парная и является самой большой костью лицевого черепа, которая состоит из тела и челюстной ветви.

Обе нижние челюсти ежа обыкновенного, между собой соединяются друг с другом с помощью хряща, образуя синхондроз. В месте соединения двух нижнечелюстных костей образуется межчелюстное пространство длиной около – 8,11±0,80 мм. Также нижняя челюсть имеет подвижное соединение с височной костью, которое образует височно-нижнечелюстной сустав.

Тело нижней челюсти у обыкновенного ежа делится на резцовую часть длиной – 8,24±0,80 мм, шириной – 6,11±0,60 мм и коренную часть длиной – 17,35±1,55 мм, шириной – 6,15±0,60 мм. На резцовой части располагаются резцовые зубы в количестве четырех штук, на коренной части тела расположены коренные зубы в виде моляров и премоляров с общим количеством четырех штук. Таким образом, мы установили, что у обыкновенного ежа на обеих нижних челюстях расположено по восемь зубов.

Резцовая часть тела нижней челюсти медиальной поверхностью срастается с одноименной костью противоположной стороны. На резцовой части также различают язычную (дорсальную) поверхность, которая немного вогнута, она имеет длину – 8,24±0,80 мм, и губную поверхность, которая обращена наружу и выпуклая, длина ее составляет – 10,12±1,03 мм. Также мы установили, что резцовая часть нижней челюсти имеет дорсальный (альвеолярный) край длиной – 8,55±0,85 мм, на котором располагаются альвеолы для резцовых зубов в количестве четырех штук, средний диаметр альвеол –

0,91±0,09 мм.

Коренная часть тела нижнечелюстной кости у обыкновенного ежа длиннее, чем резцовая и составляет – 17,35±1,75 мм. Мы установили, что на коренной части имеется две поверхности: щечная длиной – 17,12±1,70 мм, и язычная – 16,93±1,60 мм. Также нами установлено, что имеется два края: свободный длиной – 16,54±1,65 мм и альвеолярный – 15,09±1,50 мм. На альвеолярном крае располагаются альвеолы, для коренных зубов, средний диаметр альвеол равен – 1,12±0,10 мм. На латеральной поверхности под первым коренным зубом располагается подбородочное отверстие диаметром – 1,10±0,10 мм. Оно представляет собой окончание нижнечелюстного канала, который начинается на медиальной поверхности ветви нижней челюсти, нижнечелюстным отверстием, диаметр которого равен – 0,85±0,08 мм. На медиальной поверхности коренной части тела нижнечелюстной кости, параллельно альвеолярному краю, у обыкновенного ежа, проходит слабо выраженная линия мышечного прикрепления длиной – 16,01±1,60 мм.

Челюстная ветвь у ежа обыкновенного имеет вид тонкой костной пластины, которая поднимается почти под прямым углом в дорсальном направлении к мозговому черепу. Её высота составляет – 12,02±1,15 мм, а ширина доходит до – 15,08±1,50 мм. Она заканчивается двумя небольшими отростками: мышечным и суставным. Мышечный отросток служит местом прикрепления височной мышцы его длина – 3,09±0,30 мм. Суставной отросток соединяется в височно-нижнечелюстной сустав с помощью суставной поверхности длиной – 3,88±0,03 мм. Длина суставного отростка составляет – 5,12±0,50 мм. На латеральной поверхности ветви нижней челюсти имеется хорошо выраженное углубление, которое формирует ямку большой жевательной мышцы шириной – 8,12±0,80 мм. Медиальная поверхность относительно плоская на ней имеется небольшая ямка крыловой мышцы диаметром – 3,21±0,30 мм. В вентральной части крыловой ямки, располагается нижнечелюстное отверстие. Обе ямки ограничены закраиной. Медиально закраина образует крыловидный отросток длиной – 1,02±0,10 мм, он служит для прикрепления одноименной мышцы.

Мы установили, что при переходе тела нижней челюсти в ветвь, у ежа обычного образуется два угла. Наружный угол нижней челюсти хорошо разит, имеет каудальный вырост в виде углового отростка длиной – 6,12±0,60 мм. Внутренний угол располагается каудальнее последнего коренного зуба и переходит в венечный отросток, длина которого составляет – 11,15±1,10мм.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате наших исследований мы установили анатомо-топографические особенности строения нижней челюсти ежа обыкновенного, связанные с типом питания, а также определили морфометрические данные мандибулярного аппарата.

По итогам исследования мы пришли к выводу, что у ежа обыкновенного, очень мощная и хорошо развитая нижняя челюсть, которая состоит из тела и ветви. Тело нижней челюсти у обыкновенного ежа делится на резцовую часть длиной – 8,24±0,80 мм, шириной – 6,11±0,60 мм и коренную часть длиной – 17,35±1,55мм, шириной – 6,15±0,60 мм. Коренная часть тела нижнечелюстной кости длиннее резцовой части в 2,10 раза, а по ширине они почти равны. Данный факт говорит о мощности сжатия как резцовых, так и коренных зубов во время откусывания и жевания твердой пищи. На резцовой части располагаются резцовые зубы в количестве четырех штук, на коренной части тела расположены коренные зубы в виде моляров и премоляров с общим количеством четырех штук. Таким образом, мы установили, что у обыкновенного ежа на обеих нижних челюстях по 8 зубов. Благодаря этому ежи способны легко захватывать пищу, лежащую на поверхности земли и тщательно пережевывать. Ветвь нижней челюсти имеет хорошо развитые отростки, благодаря которым происходит формирование крепких суставов и надеж-

ное прикрепление мышц во время акта жевания. На латеральной поверхности ветви нижней челюсти имеется хорошо выраженное углубление, которое формирует ямку большой жевательной мышцы шириной – 8,12±0,80 мм, это безусловно говорит о наличии сильно развитых жевательных мышц у данного животного.

FEATURES OF THE STRUCTURE OF THE MANDIBULAR BONE OF THE COMMON HEDGEHOG IN CONNECTION WITH THEIR TYPE OF NUTRITION

Glushonok S. S. * – Candidate of Veterinary Sciences, ass. dep. animal anatomy (ORCID 0000-0002-8972-4376), **Zelenevsky N. V.** – Doctor of Veterinary Sciences, Prof. Animal Anatomy (ORCID 0000-0001-6679-6978)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*sunflower.92@mail.ru

ABSTRACT

Taking into account the diet of the common hedgehog, we were faced with the question of the features of the structure of the chewing apparatus of the common hedgehogs. We decided to study and establish anatomical, topographic and morphometric features of the structure of the lower jaw in the common hedgehog. The purpose of our study is to study the anatomical and topographic features of the structure of the lower jaw of the common hedgehog associated with the type of nutrition, as well as to establish morphometric data of the mandibular apparatus. To study the anatomical and topographic features of the structure of the mandibular bone of this individual, five corpses of the common hedgehog from the forestry of the Leningrad region were obtained. All representatives of this species were sexually mature. As a result of our research, we have established anatomical and topographic features of the structure of the lower jaw of the common hedgehog associated with the type of nutrition, and also determined the morphometric data of the mandibular apparatus. According to the results of the study, we came to the conclusion that the common hedgehog has a very powerful and well-developed lower jaw, which consists of a body and a branch. The root part of the mandibular bone is 2.10 times longer than the incisor part, and they are almost equal in width. This fact indicates the compression power of both incisor and molar teeth during biting and chewing solid food. On the incisor part there are incisor teeth in the amount of four pieces, on the root part of the body there are molars and premolars in the form of molars and premolars with a total of four pieces. Thanks to this, hedgehogs are able to easily grab food lying on the surface of the earth and chew thoroughly. The branch of the lower jaw has well-developed processes, thanks to which strong joints are formed and muscles are securely attached during the act of chewing. On the lateral surface of the lower jaw branch there is a well-defined depression that forms the pit of the large masticatory muscle, this certainly indicates the presence of highly developed masticatory muscles in this animal.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Кассал, Б. Ю. Еж обыкновенный / Б. Ю. Кассал // Энциклопедия Омской области: в 2 томах. Том 1. – Омск: Омское книжное издательство, 2010. – С. 336. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=27281647

2. Акимов, В. А. Обыкновенный еж Erinaceus europaeus Linnaeus / В. А. Акимов, В. Н. Большаков, Г. А. Воронов // Красная книга Среднего Урала (Свердловская и Пермская области): Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды животных и растений / Институт экологии растений и животных УрО РАН; Пермский государственный национальный исследовательский университет; Свердловский областной комитет по охране природы; Пермский областной комитет по охране природы. – Екатеринбург: Издательство Уральского университета, 1996. – С. 12. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44042051

3. Былинская, Д. С. Анатомия верхнечелюстной кости рыси евразийской / Д. С. Былинская, М. В. Щипакин, Н. В. Зеле-

невский, 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. Том I. – Ижевск: Ижевская государственная сельскохозяйственная академия, 2020. – С. 260-262. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=43146121

4. Зеленевский, Н. В. Анатомия и физиология сельскохозяйственных животных: Учебник для СПО / Н. В. Зеленевский, М. В. Щипакин, К. Н. Зеленевский. – Санкт-Петербург: Издательство "Лань", 2022. – 448 с. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48412319

5. Щипакин, М. В. Анатомо-топографические особенности строения артериального русла головы енотовидной собаки / М. В. Щипакин, А. В. Прусаков, С. В. Вирунен // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2014. – № 3. – С. 265-268. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22149180

6. Лицевой череп бобра речного (Castor fiber) / Д. С. Былинская, М. В. Щипакин, А. В. Прусаков [и др.] // Иппология и ветеринария. – 2015. – № 3(17). – С. 30-34. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=24258520

7. Вирунен, С. В. Морфологические особенности строения черепа выдры речной (Lutra Lutra) / С. В. Вирунен, М. В. Щипакин, Н. В. Зеленевский [и др.] // Иппология и ветеринария. – 2017. – № 2(24). – С. 30-33. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29436854

8. Глушонок, С. С. Анатомо-топографические особенности костей черепа гуся породы крупный серый / С. С. Глушонок, Д. С. Былинская, В. А. Хватов // Иппология и ветеринария. – 2022. – № 3(45). – С. 111-118. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=49437497

9. Стратонов, А. С. Сравнительная морфометрия носовой полости у крыс и мышей / А. С. Стратонов, С. С. Глушонок, 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. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44733038

REFERENCES

1. Kassal, B. Y. Ordinary hedgehog / B. Y. Kassal // Encyclopedia of the Omsk region: in 2 volumes. Volume 1. – Omsk: Omsk Book Publishing House, 2010:336. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=27281647

2. Akimov, V. A. Common hedgehog Erinaceus europaeus Linnaeus / V. A. Akimov, V. N. Bolshakov, G. A. Voronov // Red Book of the Middle Urals (Sverdlovsk and Perm regions): Rare and endangered species of Animals and Plants / Institute of Plant and Animal Ecology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; Perm State National Research University; Sverdlovsk Regional Committee for Nature Protection; Perm Regional Committee for Nature Protection. – Yekaterinburg: Ural University Publishing House, 1996:12. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44042051

3. Bylinskaya, D. S. Anatomy of the maxillary bone of the Eurasian lynx / D. S. Bylinskaya, M. V. Shchipakin, N. V. Zelenevsky, D. V. Vasiliev // Agrarian education and science - in the development of animal husbandry : Materials of the International scientific and practical conference dedicated to the 70th anniversary of the Honored Worker of Agriculture of the Russian Federation, Honorary worker of the HPE of the Russian Federation, laureate of the UR State Prize, Rector of the Izhevsk State Agricultural Academy, Doctor of Agricultural Sciences,

Professor Alexander Ivanovich Lyubimov. In 2 volumes., Izhevsk, July 20, 2020. Volume I. – Izhevsk: Izhevsk State Agricultural Academy, 2020:260-262. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=43146121
4. Zelenevsky, N. V. Anatomy and physiology of farm animals: Textbook for SPO / N. V. Zelenevsky, M. V. Shchipakin, K. N. Zelenevsky. – St. Petersburg: Publishing House "Lan", 2022:448. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48412319
5. Shchipakin, M. V. Anatomical and topographic features of the structure of the arterial bed of the raccoon dog's head / M. V. Shchipakin, A.V. Prusakov, S. V. Virunen // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. – 2014:3:265-268. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22149180
6. The facial skull of a river beaver (Castor fiber) / D. S. Bylinskaya, M. V. Shchipakin, A.V. Prusakov [et al.] // Hippology and veterinary medicine. – 2015. – № 3(17). – Pp. 30-34. Access mode: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=24258520
7. Virunen, S. V. Morphological features of the structure of the skull of the river otter (Lutra Lutra) / S. V. Virunen, M. V. Shchipakin, N. V. Zelenevsky [et al.] // Hippology and veterinary medicine. – 2017:2 (24):30-33. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29436854
8. Glushonok, S. S. Anatomical and topographic features of the bones of the skull of a goose of the large gray breed / S. S. Glushonok, D. S. Bylinskaya, V. A. Khvatov // Hippology and veterinary medicine. – 2022:3(45):111-118. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=49437497
9. Stratonov, A. S. Comparative morphometry of the nasal cavity in rats and mice / A. S. Stratonov, S. S. Glushonok, S. A. Alexandrova, Yu. Yu. Barteneva // Materials of the National Scientific conference of the teaching staff, researchers and postgraduates of St. Petersburg State Medical University, January 25-29, 2021. – Saint Petersburg: Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2021:99-101. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44733038.

УДК: 591.471.37:599.742.75
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.250

АНАТОМО-ТОПОГРАФИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ФАСЦИЙ ЯГОДИЧНО-БЕДРЕННОЙ ОБЛАСТИ У РЫСИ ОБЫКНОВЕННОЙ

Слесаренко Н.А.* – д-р биол. наук, проф. каф. анатомии и гистологии животных им. проф. А.Ф. Климова (ORCID 0000-0002-8350-5965); **Оганов Э.О.** – канд. ветеринар. наук, доц. каф. анатомии и гистологии животных им. проф. А.Ф. Климова (ORCID 0000-0003-1206-4397); **Широкова Е. О.** – канд. биол. наук, доц. каф. анатомии и гистологии животных им. проф. А.Ф. Климова, (ORCID 0000-0003-4891-5405).

ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА им. К.И. Скрябина

* slesarenko2009@yandex.ru

Ключевые слова: *рысь обыкновенная, фасции, скелетные мышцы, тазовая конечность, тазобедренный сустав, коленный сустав.*

Keywords: *Lynx vulgaris, fascia, skeletal muscles, pelvic limb, hip joint, knee joint.*

Поступила: 25.09.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

В статье представлены анатомические особенности поверхностной и глубокой фасций, в частности на тазовой конечности у обыкновенной рыси, отсутствующие в доступной литературе. Материалом для исследований служил секционный материал- тазовые конечности (n=6), отобранные от рыси обыкновенной, без внешних признаков патологий опорно-двигательного аппарата. Использовали методы тонкого макро- и микроанатомического препарирования левой тазовой конечности рыси. Вместе с этим проводили функциональный анализ изучаемых структур и скелетотопическое проецирование мышц, фасций и фасциальных узлов. На основании проведенных исследований установлено, что глубокая фасция отделяется от поверхностной фасции межфасциальным пространством заполненным рыхлой соединительной (или жировой) тканью. В области тазовой конечности она представлена ягодично-бедренной фасцией, а на голени она продолжается как глубокая фасция голени. В процессе препарирования глубокой фасции мы отметили, что в ягодичной области глубокая ягодичная фасция закрепляется на надостистой связке, в области корня хвоста, по хвостовой складке и до седалищного бугра. Мы отметили, что глубокая ягодичная фасция, начинается от позвоночной головки двуглавой мышцы бедра и, в краниальном направлении покрывает последовательно – хвостобедренную, поверхностную ягодичную и каудальную часть средней ягодичной мышцы. По ходу в неё вплетаются перимизии выше перечисленных мышц, однако в области крыла подвздошной кости она срастается с перимизием средней ягодичной мышцы и далее продолжается в поясничную фасцию. Вместе с этим, в области маклока она формирует фасциальный узел. В дистальном направлении глубокая ягодичная фасция продолжается в качестве глубокой бедренной фасции. Полученные данные являются эталонными в оценке структурно-функционального состояния фасциальных образований тазовой конечности у обыкновенной рыси.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Выявление морфофункциональных особенностей фасциальных образований – мягкого остова опорно-двигательного аппарата у животных остается одной из важнейших проблем биологической науки и ветеринарной практики поскольку фасции являются интегрирующей системой, выполняющей в статолокомоторном акте важную опорную, ограничительную и трофическую функции [1,2,9]. В организме животного различают поверхностные и собственные фасции. Среди собственных фасций конечностей особое место занимаю фасциальные узлы. В доступной литературе имеются фрагментарные сведения, касающиеся особенностей собственных фасций [3,4,5,6,7,8]. Что касается топографических особенностей мышечно-фасциальных образований у животных, то этот вопрос остается практически не изученным.

Исходя из вышеизложенного, цель настоящего исследования – установить анатомо-топографические особенности поверхностной и глубокой фасций, выявить послойное расположение органов в ягодичной и средней бедренной областях. Определить их взаиморасположение, места фасциальных узлов, межмышечных фасциальных пластин и перегородок, и оценить функциональную значимость изучаемых структур.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHOD

Исследования выполнены на кафедре анатомии и гистологии животных им. профессора А.Ф. Климова ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина». Материалом для исследований служил секционный материал – тазовые конечности (n=6), отобранные от рыси обыкновенной, без внешних признаков патологий опорно -двигательного аппарата. Использовали методы тонкого макро- и микроанатомического препарирования левой тазовой конечности рыси. Правые тазовые конечности замораживали в холодильнике, затем проводили их распиливание в двух плоскостях: 1. Поперечный распил в проксимальной трети бедра; 2. Распил в сегментальной плоскости (с небольшим уклоном) вдоль проксимальной трети бедра, по передней поверхности бедренной кости, и далее, до границы первого и второго хвостовых позвонков. После чего, распилы фиксировали в 5-6%-м растворе нейтрального формалина, и далее, фиксированные распилы вновь подвергали послойному препарированию. Вместе с этим проводили функциональный анализ изучаемых структур и скелетотопическое проецирование мышц, фасций и фасциальных узлов.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Методом тонкого препарирования мы установили, что между кожей и поверхностной ягодично-бедренной фасцией подкожная клетчатка развита слабо, в следствии чего, в некоторых участках, они плотно прилегают друг к другу. Вместе с этим, мы отметили, что в ягодичной области поверхностная фасция срастается с кожей в местах вхождения сосудисто-нервных пучков в кожу. После снятия кожи, мы установили, что между наружным и внутренним листками поверхностной фасции подкожная мышца туловища продолжается и в бедренной области.

Поверхностная фасция туловища продолжается в поверхностную ягодично-бедренную фасцию, которая в дистальном направлении покрывает бедренную область и переходит на голень в качестве поверхностной фасции голени (рис. 1 А).

Препарируя поверхностную фасцию, мы установили, что в области её перехода на тазовую конечность с одной стороны, и её перехода в область паха с другой стороны, поверхностная фасция раздваивается на бедренную фасцию и фасцию живота. Бедренная часть, формирует складку, которая служит основанием для коленной складки. На краниальной поверхности бедра поверхностная фасция разделяется ещё надвое – на латеральную, и на медиальную поверхности бедра. Облегая бедро со всех сторон, по всей окружности, она формирует отдельный, второй пласт (первый кожа).

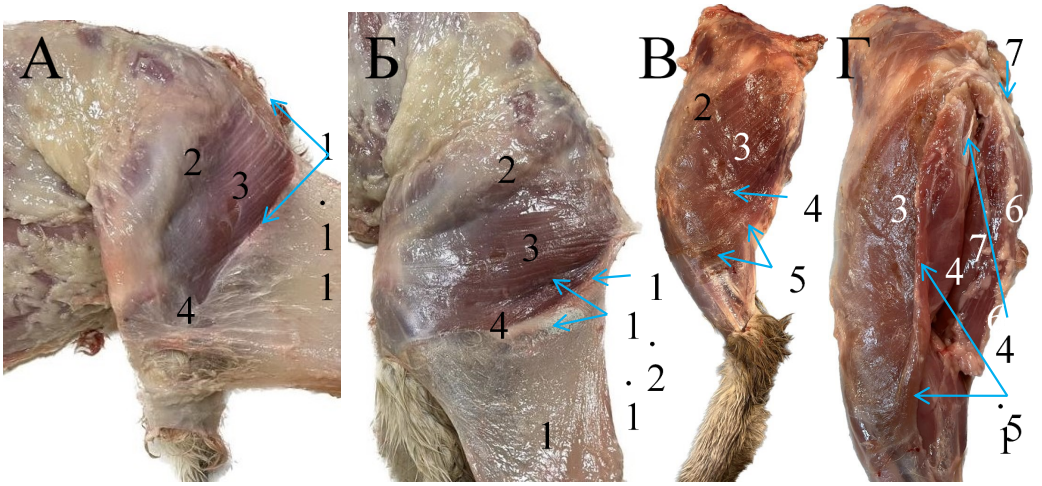


*Рисунок 1 – Макропрепарат тазовой конечности рыси обыкновенной: **А** – вид отделённой поверхностной ягодично-бедренной фасции с латеральной поверхности; **Б** – вид фасциальных узлов поверхностной ягодично-бедренной фасции; **В –** поверхностные мышцы бедренной области с латеральной поверхности; **Г –** рассечение между двуглавой мышцей бедра и полусухожильной мышцей: 1 – поверхностная фасция бедра, 1.1. – место отсечения фасциального узла между позвоночной и седалищной головками двуглавой мышцы бедра; 1.2. – фасциальный узел между двуглавой и полусухожильной мышцами; 2 – глубокая фасция бедра; 3 – позвоночная и 4 – седалищная головки двуглавой мышцы бедра; 4.1. – проксимальное сухожилие последней; 5 – каудальный абдуктор голени; 6 – полусухожильная мышца; 7 – полуперепончатая мышца.*

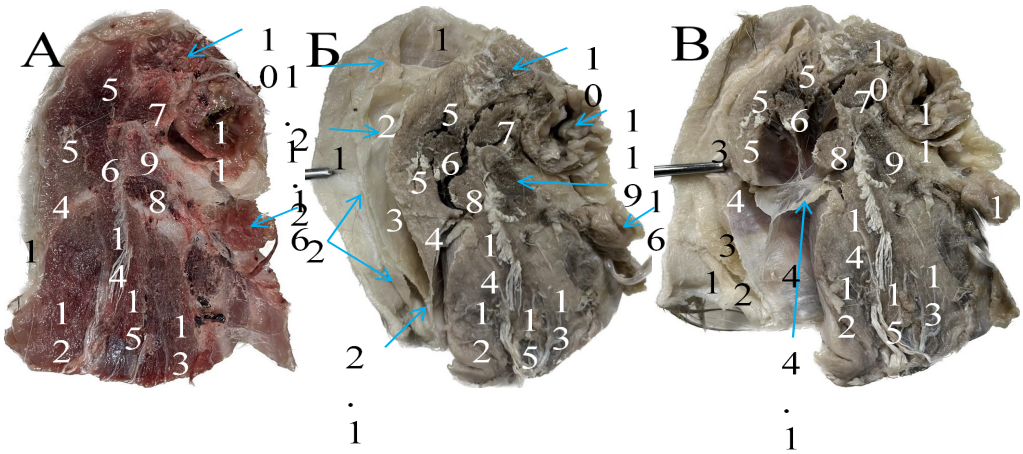


*Рисунок 2 – Макропрепарат распила правой тазовой конечности в сагиттальной плоскости по переднему краю и от середины бедренной кости, а далее и в ягодичной области у рыси обыкновенной: **А** – свежий распил ягодично-бедренной области; **Б** – то же, но фиксированный препарат и отпрепарированы поверхностные пласты; **В –** то же, но отпрепарированы более глубокие структуры ягодичной области: 1 – кожа, 1.1. – крестцовый фасциальный узел кожи, поверхностной и глубокой фасций и надостистой связки; 2 – поверхностная фасция; 3 – глубокая фасция; 4 – латеральная часть напрягателя широкой фасции бедра, 4.1. – её сухожильная пластина; 5 – средняя ягодичная мышца; 6 – добавочная ягодичная мышца; 7 – грушевидная мышца; 8 – глубокая ягодичная мышца; 9 – распил тела подвздошной кости; 10 - распил на уровне 1-2 хвостового позвонка; 11 – прямая кишка; 12 – латеральная головка, 13 – медиальная головка, 14 – промежуточная головка и 15 – прямая головка четырёхглавой мышцы бедра; 16 – распил части мочевого пузыря.*

Мы отметили, что на латеральной поверхности бедра и в ягодичной области, внутренний лист поверхностной фасции срастается с поверхностным листом глубокой фасции в области пограничной линии места срастания позвоночной и седалищной головок двуглавой мышцы бедра (с её перимизием), и выше – по каудальному краю позвоночной головки, по крестцово-бугровой связке, вплоть до корня хвоста (рис. 1 А, Б-1.1.), формируя по этой линии «фасциальный узел». Далее, поверхностная фасция, продолжаясь в каудальном направлении, между двуглавой и полуперепончатой мышцами формирует фасциальный узел (рис. 1 Б-1.2.), переходящий в каудальную межмышечную пластину. На каудальной поверхности бедра поверхностная фасция покрывает снаружи последовательно каудальную поверхность полусухожильной и полуперепончатой мышц, между которыми также формируется фасциальный узел. На медиальной поверхности бедра поверхностная фасция покрывает снаружи стройную и портняжную мышцы. Огибая бедро, она продолжается на краниальную поверхность бедра. Таким образом, поверхностная фасция бедра вторым пластом (после кожи) обварачивает бедро снаружи, имеет свои точки опоры, или точки фиксации в каудо-латеральной и каудальной части бедра, а в ягодичной области – в области крестцовобугровой связки (хвостовой складке), на корне хвоста и надостистой связке.

Глубокая фасция отделяется от поверхностной фасции межфасциальным пространством, заполненным рыхлой соединительной (или жировой) тканью. В области тазовой конечности она представлена ягодично-бедренной фасцией, а на голени она продолжается как глубокая фасция голени. В процессе препарирования глубокой фасции мы отметили, что в ягодичной области глубокая ягодичная фасция закрепляется на надостистой связке (рис. 4 А- 3), в области корня хвоста, по хвостовой складке и до седалищного бугра. Мы отметили, что глубокая ягодичная фасция, начинается от позвоночной головки двуглавой мышцы бедра и, в краниальном направлении покрывает последовательно – хвостобедренную, поверхностную ягодичную и каудальную часть средней ягодичной мышцы. По ходу в неё вплетаются перимизии вышеперечисленных мышц, однако в области крыла подвздошной кости она срастается с перимизием средней ягодичной мышцы и далее продолжается в поясничную фасцию. Вместе с этим, в области маклока она формирует фасциальный узел. В дистальном направлении глубокая ягодичная фасция продолжается в качестве глубокой бедренной фасции (рис. 1 Б-2). На латеральной поверхности, на границе между средней ягодичной, напрягателем широкой фасции бедра и двуглавой мышцы бедра (впереди основания большого вертела), мы обнаружили ещё один фасциальный узел. Необходимо отметить, что глубокая бедренная фасция облегает бедро со всех сторон, заключая между своими наружным и внутренним листами двуглавую мышцу бедра, портняжную и стройную мышцы, а между ними мы наблюдаем продолжение этой фасции, тем самым она формирует третий пласт вокруг бедра.

После препарирования фасций и мышц тазовой конечности, на замороженной правой тазовой конечности мы произвели два распила. Один – поперечный, на уровне проксимальной трети бедра (рис. 3 А, Б), второй – продольный, вдоль краниальной поверхности верхней трети бедра (ближе к кости), и далее через тело подвздошной кости, к 1-2-му хвостовым позвонкам (рис. 2 А). На полученных распилах визуально хорошо просматриваются распилы костей, мышц и соединительнотканных структур бедренной и ягодичной областей, а также и некоторых внутренних органов. При препарировании фиксированных препаратов можно определить взаиморасположение органов, фасций, фасциальных узлов, межмышечных фасциальных пластин, переходящих в сухожильные пластины.

I.На распиле ягодичной области хорошо визуализируется послойное располо-

жение структур. Так, снаружи ягодичную область покрывает кожа (рис. 2 А, Б, В-1), к ней плотно прилегает поверхностная ягодичная фасция (2), которая в сагиттальной плоскости формирует мощный «крестцовый срединный фасциальный узел» с кожей, подлежащей глубокой фасцией и надостистой связкой (1.1). Под поверхностной фасцией располагается глубокая ягодичная фасция, которая в области распила является продолжением с двуглавой мышцы бедра на поверхностную ягодичную мышцу. Ниже уровня тазобедренного сустава она срастается с подлежащей фасциальной частью напрягателя широкой фасции бедра (2.1), однако выше они расходятся, и глубокая фасция покрывает мышечную часть напрягателя (4), а затем и среднюю ягодичную мышцу (5), до уровня несколько выше её середины, в фронтальной плоскости (2.2). Здесь глубокая фасция срастается с перимизием средней ягодичной мышцы и далее вливается в «срединный фасциальный узел». Под средней ягодичной мышцей расположены две мышцы – добавочная ягодичная и грушевидная. Грушевидная мышца (7) начинается от поперечно-рёберных отростков последнего крестцового и первых двух хвостовых позвонков, а заканчивается сухожилием на вершине большого вертела бедренной кости. Добавочная ягодичная мышца (6) начинается от крыла подвздошной кости и заканчивается на боковой поверхности основания большого вертела бедренной кости. Обе мышцы покрыты средней ягодичной мышцей. Под грушевидной мышцей лежит глубокая ягодичная мышца (8), которая у рыси относительно небольшая. Она начинается от краниальной части седалищной ости и от дорсального гребня большой седалищной вырезки (каудальная часть). Вторая, краниальная её часть тесно срастается с внутренней поверхностью добавочной ягодичной мышцы, однако её мышечные волокна дистальными концами сливаются с каудальной частью, и совместно заканчиваются по всей вершине большого вертела бедренной кости под сухожилием грушевидной мышцы. На основании этих исследований, мы можем утверждать, что грушевидная и добавочная ягодичная мышцы формируют один мышечный пласт, под которыми самым глубоким пластом выступает глубокая ягодичная мышца.

Вместе с этим, на распиле (рис. 2 В) можно проследить формирование из межмышечных фасциальных пластин нескольких мышц «сухожильной пластины» (4.1), которая формируется от проксимальной внутренней поверхности напрягателя широкой фасции бедра, к кранио-латеральному гребню подвздошной кости. С ней срастаются межмышечные фасциальные пластины от средней ягодичной (5) и добавочной ягодичной (6) мышц, а ближе к основанию большого вертела бедренной кости – от двуглавой мышцы бедра.

II. На втором, поперечном распиле, проведённом в проксимальной трети бедра можно проследить послойное взаиморасположение мышц (рис. 3) и фасциальных структур (рис. 4, 5) на этом уровне. Так, снаружи бедро покрыто кожей, с которой достаточно плотно срастается поверхностная фасция бедра (рис. 3; рис. 4 А, Б, В-3). На медиальной поверхности бедра она раздваивается на поверхностную фасцию живота и медиальную поверхностную фасцию бедра. Последняя, покрывает медиальную глубокую фасцию бедра и между ними хорошо развито межфасциальное пространство, заполненное рыхлой соединительной (или жировой) тканью.

На краниальном крае бедра поверхностная фасция формирует «краниальный фасциальный узел» с глубокой фасцией бедра и кожей (рис. 4 А-3.1). Кроме этого, на латеральной поверхности поверхностная фасция бедра формирует «латеро-краниальный и латеро-каудальный фасциальные узлы» (рис. 4 А, Б-5; рис. 5 А, Б-3.1, 3.2), а в каудо-латеральной области – «каудо-латеральный фасциальный узел» (рис. 5 А, Б-3.3).

Нужно иметь в виду, что глубокая фасция бедра с латеральной стороны за-

ключает двуглавую мышцу бедра, а с медиальной – стройную и портняжную. На медиальной поверхности, между стройной и портняжной мышцами глубокая фасция формирует «медиальный фасциальный узел», который заключает сосудисто-нервный пучок Сафена. Он продолжается вглубь между медиальной головкой четырёхглавой мышцы бедра и гребешковой мышцами, до медиальной губы бедренной кости. С наружной поверхности глубокой фасции, от медиального фасциального узла, глубокая фасция бедра, у рыси, раздваивается, т.е. «наружная глубокая фасция» покрывает портняжную мышцу и продолжается в краниальном направлении к краниальному фасциальному узлу (рис. 4 А-4), где сливается с поверхностной фасцией бедра. Внутренняя глубокая фасция заключает в себе портняжную мышцу, и своей наружной поверхностью в кранио-латеральной области бедра срастается с поверхностной фасцией. Вместе с ней она продолжается, покрывая напрягатель широкой фасции бедра со стороны латеральной головки четырёхглавой мышцы бедра (рис. 4 В-18.1). От краниального края двуглавой мышцы бедра, облегая напрягатель в области латеральной головки четырёхглавой мышцы бедра, она отделяется к латеральной губе бедренной кости как «межмышечная кранио-латеральная фасциальная пластина» (рис. 4 В- 9).

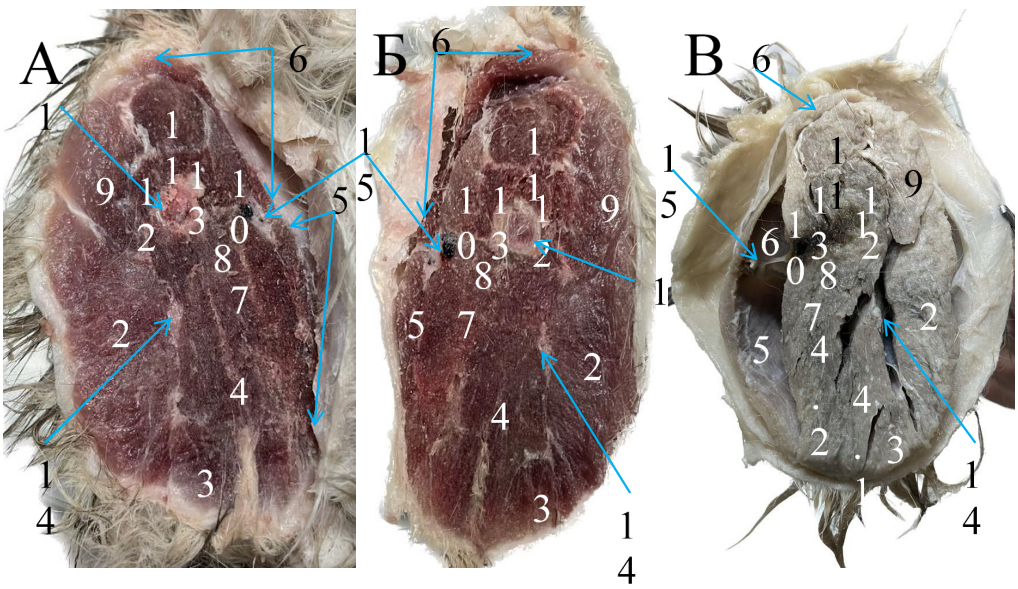


*Рисунок 3 – Макропрепарат распила правой тазовой конечности на уровне середины бедра у рыси обыкновенной: **А** – распил со стороны туловища; **Б** – вид с обратной стороны (со стороны конечности); **В-** то же, но фиксированный и частично расслоённый препарат: 1 – бедренная кость; 2 – двуглавая мышца бедра; 3 – полусухожильная мышца; 4 – полуперепончатая мышца; 5 – стройная мышца; 6 – портняжная мышца; 7 – приводящая мышца; 8 – гребешковая мышца; 9 - латеральная головка, 10 – медиальная головка, 11 – прямая головка, 12 и 13 – латеральная и медиальная части промежуточной головки четырёхглавой мышцы бедра; 14 – седалищный нерв; 15 – сосудисто-нервный пучок сафена.*

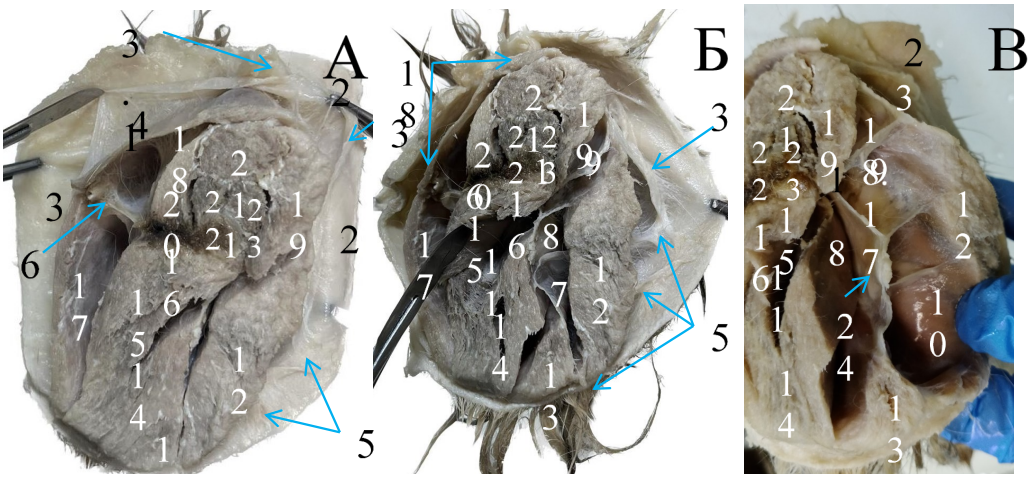


*Рисунок 4 – Макропрепарат распила правой тазовой конечности на уровне середины бедра у рыси обыкновенной (фиксированный препарат)**: А** – отпрепарированы поверхностные пласты;* ***Б*** *– отпрепарированы глубоко расположенные мышцы;* ***В –*** *фасциальные узлы и пластины расположенные между мышцами бедра**:** 1 – бедренная кость; 2 – кожа; 3 – поверхностная фасция бедра, 3.1. её краниальный фасциальный узел; 4 – наружная глубокая фасция бедра; 5 – фасциальные узлы на латеральной поверхности бедра; 6 – медиальный фасциальный узел, от глубокой фасции; 7 – срединная фасциальная пластина; 8 – фасциальная пластина от берцовой части полуперепончатой мышцы; 9 – кранио-латеральная фасциальная пластина; 10 – фасциальные пластинки от позвоночной и седалищной головок двуглавой мышцы бедра; 11 – фасциальная пластинка от бедренной части полуперепончатой мышцы; 12 – двуглавая мышца бедра; 13 – полусухожильная мышца; 14 – полуперепончатая мышца; 15 - гребешковая мышца; 16 – приводящая мышца; 17 – стройная мышца; 18 – портняжная мышца, 18.1. – внутренняя глубокая фасция бедра; 19 – латеральная головка, 20 – медиальная головка, 21 – прямая головка, 22 и 23 – медиальная и латеральная части промежуточной головки четырёхглавой мышцы бедра; 24 - седалищный нерв.*

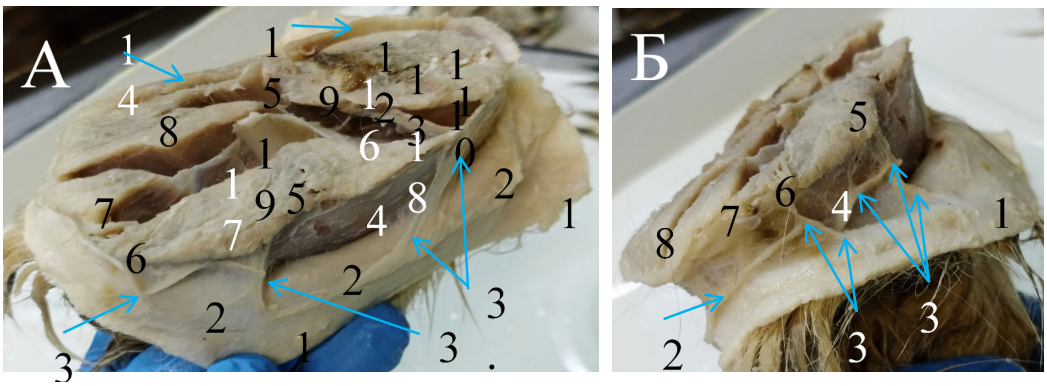


*Рисунок 5 – Макропрепарат распила правой тазовой конечности на уровне середины бедра у рыси обыкновенной (фиксированный препарат)**: А** – вид фасциальных узлов с латеральной поверхности;* ***Б*** *– то же, вид с каудо-латеральной поверхности**:** 1 – кожа; 2 – поверхностная фасция бедра; 3 – фасциальные узлы в области двуглавой мышцы бедра; 3.1. – латеро-краниальный, 3.2.– латеро-каудальный и 3.3. – каудо-латеральный фасциальные узлы; 4 – глубокая фасция; 5 –двуглавая мышца бедра; 6 – каудальный абдуктор голени; 7 – полусухожильная мышца; 8 – полуперепончатая мышца; 9 – гребешковая мышца; 10 – латеральная, 11 – прямая, 12 – медиальная и 13 – промежуточная головки четырёхглавой мышцы бедра; 14 – тройная мышца; 15 – портняжная мышца; 16 – бедренная кость; 17 - срединная и 18 – кранио-латеральная фасциальные пластины; 19 – седалищный нерв.*

От медиальной поверхности двуглавой мышцы бедра отходят ещё две «межмышечные фасциальные пластинки» к срединной межмышечной фасциальной пластине, одна в области срединного нерва, а вторая каудальнее, от места границы или сращения позвоночной и седалищной головок двуглавой мышцы бедра (рис. 4 В- 10).

«Срединная межмышечная фасциальная пластина» среди остальных, у рыси является самой крупной (рис. 4 Б, В- 7; рис. 5 А- 17). Она начинается от внутренней поверхности полусухожильной мышцы и проходит между двуглавой с одной стороны и полуперепончатой и приводящей мышцами с другой. В средней части данная межмышечная фасциальная пластина заключает седалищный нерв (рис. 4 В- 24; рис. 5 А- 19), и продолжается до латеральной губы бедренной кости.

Кроме этого, мы отметили, что и от берцовой части полуперепончатой мышцы также отходит «межмышечная фасциальная пластинка» (рис 4 В- 8), которая закрепляется на латеральной губе бедренной кости.

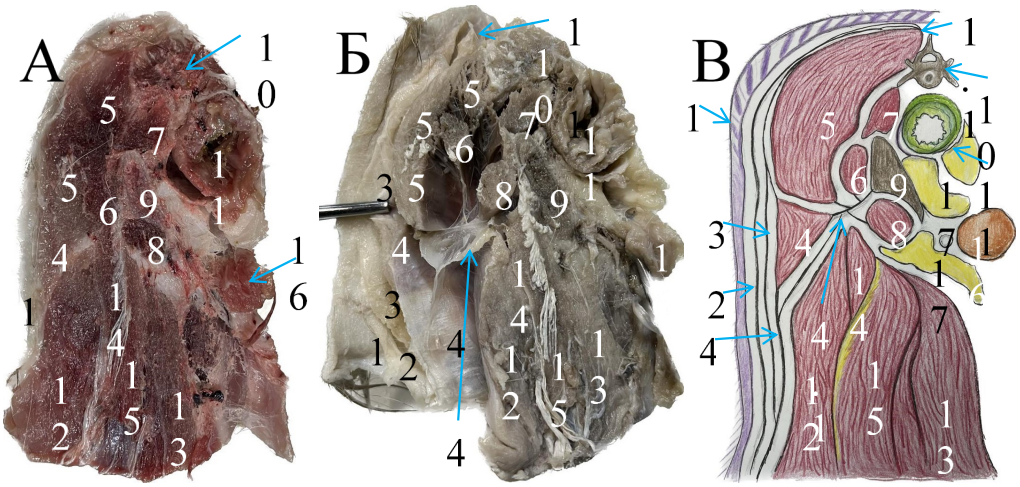


*Рисунок 6 – Макропрепарат и схема поперечного распила в ягодичной области правой тазовой конечности у рыси обыкновенной: **А** – распил ягодично-бедренной области; **Б** – то же, но фиксированный препарат и отпрепарированы поверхностные пласты; **В –** то же, схема распила: 1 – кожа, 1.1. – крестцовый фасциальный узел; 2 – поверхностная фасция; 3 – глубокая фасция; 4 – латеральная часть напрягателя широкой фасции бедра, 4.1. – её сухожильная пластина; 5 – средняя ягодичная мышца; 6 – добавочная ягодичная мышца; 7 – грушевидная мышца; 8 – глубокая ягодичная мышца; 9 – распил тела подвздошной кости; 10 – распил на уровне 1-2 хвостового позвонка; 11 – прямая кишка; 12 – латеральная головка, 13 – медиальная головка, 14 – промежуточная головка и 15 – прямая головка четырёхглавой мышцы бедра; 16 – распил части мочевого пузыря; 17 – жировая ткань.*

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, на замороженных распилах нами установлено взаиморасположение мышц расположенных в ягодичной, и в проксимальной трети бедра. Выявлены анатомические особенности поверхностной и глубокой фасций, в частности на тазовой конечности у обыкновенной рыси, отсутствующие в доступной литературе.

Нами установлены топические особенности анатомических образований – фасциальных узлов, межмышечных фасциальных пластин и межмышечных перегородок в ягодичной и бедренной областях.

Если рассматривать послойное расположение мышц со стороны медиальной поверхности бедра, то на макропрепарате хорошо видно их послойное расположение по дистальным концам мышц, которые можно расслоить, а также на распилах мы смогли подтвердить, а в некоторых случаях и уточнить взаимосвязь мышц.

Нами установлено послойное расположение структур в ягодичной области, которые можно представить в виде пластов в следующей последовательности: 1. Кожа; 2. Поверхностная ягодичная фасция; 3. Глубокая ягодичная фасция; 4. Средняя ягодичная мышца; 5. Грушевидная и добавочная ягодичная мышцы; 6. Глубокая ягодичная мышца. К последней, можно отнести и внутреннюю запирательную мышцу.

На основании препарирования и распилов ягодичной области можно утверждать, что в третий пласт входят также двуглавая мышца бедра (проксимальный конец позвоночной головки двуглавой мышцы бедра). Необходимо отметить, что глубокая ягодичная фасция от позвоночной головки в краниальном направлении последовательно покрывает хвостобедренную, поверхностную ягодичную и

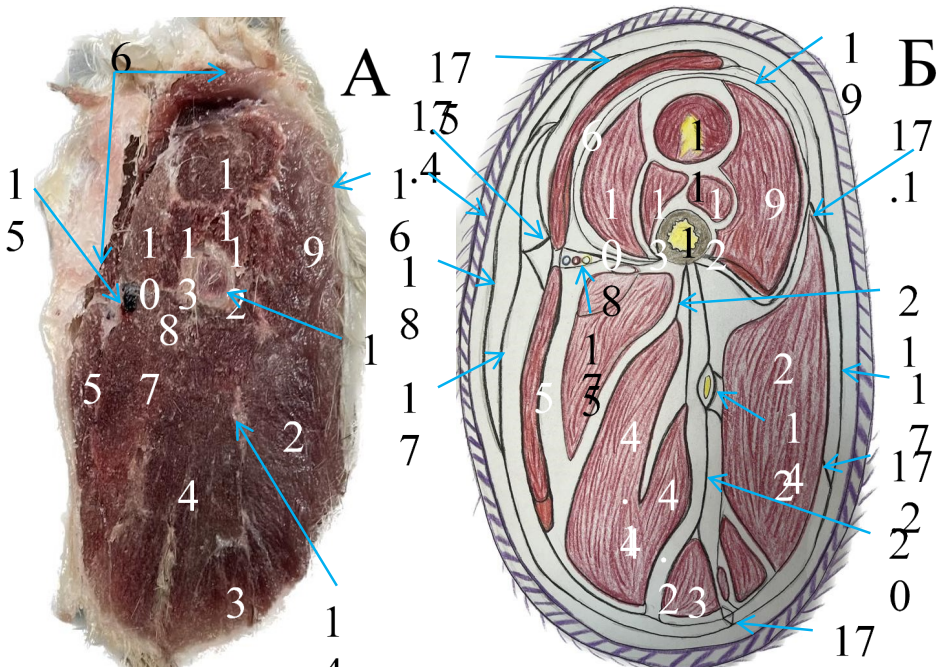


*Рисунок 7 – Макропрепарат распила и схема правой тазовой конечности на уровне середины бедра у рыси обыкновенной: **А** – распил бедра; **Б** – схема распила бедра: 1 – бедренная кость; 2 – двуглавая мышца бедра; 3 – полусухожильная мышца; 4 – полуперепончатая мышца, 4.1. – её берцовая часть и 4.2. – её бедренная часть; 5 – стройная мышца; 6 – портняжная мышца; 7 – приводящая мышца; 8 – гребешковая мышца; 9 – латеральная, 10 – медиальная, 11 – прямая и 12 –13 – промежуточная головки четырёхглавой мышцы бедра; 14 – седалищный нерв; 15 – сосудисто-нервный пучок сафена заключённый в медиальную фасциальную пластину; 16 – кожа; 17 – поверхностная фасция бедра, 17.1. – латеро-краниальный, 17.2. – латеро-каудальный, 17.3. – каудо-латеральный и 17.4. – медиальный фасциальные узлы; 18 – поверхностная фасция живота; 19 – широкая фасция бедра; 20 – срединная межмышечная фасциальная пластина; 21 – межмышечная фасциальная пластина полуперепончатой мышцы.*

далее краниальную половину средней ягодичной мышцы. Если с хвостобедренной мышцей она соединяется посредством рыхлой соединительной ткани, то от поверхностной ягодичной мышцы в краниальном направлении отходит фасциальная пластинка, которая рыхло покрывает каудальную часть средней ягодичной мышцы, а далее, глубокая фасция и эта фасциальная пластинка тесно срастаются между собой и с перимизием краниальной половины средней ягодичной мышцы.

По распилам бедра, установлено послойное расположение структур бедра, и с медиальной поверхности их можно расположить следующим образом:

1. Кожа; 2. Поверхностная медиальная фасция бедра; 3. Глубокая медиальная фасция бедра (включающая стройную и портняжную мышцы); 4. Полуперепончатая, приводящая и гребешковая мышцы.

Здесь нужно помнить, что глубокая фасция бедра на кранио-медиальной, краниальной и краниолатеральной поверхностях имеет ещё два пласта: 1. Кожа; 2. Поверхностная фасция; 3. Наружная глубокая фасция; 4. Портняжная мышца, а с кранио-латеральной поверхности – внутренняя глубокая фасция бедра; 5. Напрягатель широкой фасции бедра; 6. Латеральная и медиальная головки четырёхглавой мышцы бедра (ч.м.б.); 7. Прямая головка, 8. Промежуточная головка бедра.

С латеро-каудальной поверхности бедра пласты можно расположить в следующем порядке: 1. Кожа; 2. Поверхностная фасция бедра; 3. Глубокая фасция бедра (включающая двуглавую мышцу бедра); 4. Полусухожильная мышца и срединная межмышечная фасциальная пластина; 5. Полуперепончатая, приводящая мышцы.

Выявленные анатомические особенности фасций, фасциальных узлов, фасциальных межмышечных пластин отражают их функциональную взаимосвязь. Полученные данные являются эталонными в оценке структурно-функционального состояния мышц тазовой конечности у обыкновенной рыси.

ANATOMICAL AND TOPOGRAPHIC FEATURES OF FASCIA OF THE GLUTEAL-FEMORAL REGION IN THE COMMON LYNX

Slesarenko N. A.* – Doctor of Biology, Prof. kaf. anatomy and histology of animals named after Professor A.F. Klimov (ORCID 0000-0002-8350-5965), **Oganov E. O.** – Candidate of Veterinary Sciences, Assoc. kaf. anatomy and Histology of Animals named after Professor A.F. Klimov (ORCID 0000-0003-1206-4397); **Shirokova E. O.** – Candidate of Biology, Associate Professor of the Faculty. Anatomy and histology of animals named after Professor A.F. Klimov, (ORCID 0000-0003-4891-5405),

K.I. Scriabin Moscow State Medical University

* slesarenko2009@yandex.ru

ABSTRACT

The article presents anatomical features of the superficial and deep fascia, in particular on the pelvic limb of the common lynx, which are absent in the available literature. The material for the research was a sectional material - pelvic limbs (n= 6), selected from the common lynx, without external signs of pathologies of the musculoskeletal system. Methods of fine macro- and microanatomic dissection of the lynx's left pelvic limb were used. At the same time, a functional analysis of the studied structures and skeletotopic projection of muscles, fascia and fascial nodes were carried out. Based on the conducted studies, it was found that the deep fascia is separated from the superficial fascia by an interfacial space filled with loose connective (or fatty) tissue. In the pelvic limb area, it is represented by the gluteal-femoral fascia, and on the lower leg it continues as the deep fascia of the lower leg. In the process of dissecting the deep fascia, we noted that in the gluteal region, the deep gluteal fascia is fixed on the supracosteal ligament, in the area of the root of the tail, along the tail fold and up to the sciatic tubercle. We noted that the deep gluteal fascia begins from the vertebral head of the biceps femoris muscle and, in the cranial direction, covers successively the posterior, superficial gluteal

and caudal part of the middle gluteus muscle. Along the way, the perimysium of the above muscles are interwoven into it, however, in the area of the iliac wing, it fuses with the perimysium of the middle gluteal muscle and then continues into the lumbar fascia. At the same time, it forms a fascial node in the maklok area. Distally, the deep gluteal fascia continues as the deep femoral fascia. The data obtained are the reference in assessing the structural and functional state of the fascial formations of the pelvic limb in the common lynx.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Анатомия собаки. Соматические системы: учебник для вузов / Н. А. Слесаренко, Н.В. Бабичев, Е.С. Дурткаринов, Ф.Р. Капустин; под редакцией Н. А. Слесаренко. – 3-е изд., стер. – Санкт-Петербург: Лань, 2023 – 96 с.: ил. – Текст: непосредственный.

2.Былинская, Д. С. Мышцы тазовой конечности рыси евразийской / Д. С. Былинская // Иппология и ветеринария. – 2013. – № 1(7). – С. 35-40. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=19086971

3.Муратова, А. Р. Морфофункциональные особенности мышц суставов тазовой конечности у хищных / А. Р. Муратова, М. В. Лазарева // Сборник III Всероссийской (национальной) научной конференции «Роль аграрной науки в устойчивом развитии сельских территорий». – 2018. – С. 750-753.

4.Особенности анатомии мышц коленного сустава козы англо-нубийской породы / В. А. Хватов, Д. В. Васильев, Д. С. Былинская, А. С. Стратонов // 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. 108-110. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=44736454

5.Слесаренко, Н. А. Морфофункциональные особенности строения мышц коленного сустава в зависимости от механизма статолокомоторного акта / Н. А. Слесаренко, Е. О. Широкова, В. А. Иванцов // Иппология и ветеринария. – 2022. – № 1 (43). – С. 160-167. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=48157513

6.Стратонов, А. С. Морфофункциональная характеристика мускулатуры стило и зейгоподия у свиней породы ландрас в период новорожденности / А. С. Стратонов, М. В. Щипакин // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2016. – № 4. – С. 262-264. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=27515778

7.Широкова, Е. О. Анатомо-топографические особенности четырёхглавой мышцы бедра у благородного пятнистого оленя / Е. О. Широкова, Н. А. Слесаренко, Э. О. Оганов // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2023. – № 2. – С. 50-59. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=27515778

8.Слесаренко, Н. А. Морфофункциональная характеристика мышц коленного сустава у представителей семейства кошачьих / Н. А. Слесаренко, Е. О. Широкова, А. А. Андриевская // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2022. – № 5. – С. 6-12. DOI 10.36871/vet.zoo.bio.202205001. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=49230675

9. Особенности распределения нервов в некоторых мышцах тазобедренного сустава у собак / М. В. Щипакин, А. В. Прусаков, С. В. Вирунен, Д. С. Былинская // Актуальные вопросы морфологии и биотехнологии в животноводстве : Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора О.П. Стуловой, Кинель, 16–19 июня 2015 года / ФГБОУ ВПО "Самарская государственная

сельскохозяйственная академия". – Кинель: Самарская государственная сельскохозяйственная академия, 2015. – С. 56-59. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=50284127

10.Стратонов, А. С. Мышцы коленного сустава у свиней породы Ландрас на ранних этапах постнатального онтогенеза / А. С. Стратонов, М. В. Щипакин // Материалы международной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ, Санкт-Петербург, 23–27 января 2017 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2017. – С. 89-91. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=29107026

11.Стратонов, А. С. Возрастная анатомо-топографическая характеристика интраорганного венозного русла мышц тазовой конечности свиньи домашней / А. С. Стратонов, М. В. Щипакин, Д. В. Васильев // 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. 401-405. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=47439987

12.Яволовская, Я. О. Скелет пояса тазовой конечности соболя черной пушкинской породы в возрастном аспекте / Я. О. Яволовская, М. В. Щипакин // Иппология и ветеринария. – 2023. – № 1(47). – С. 118-128. – DOI 10.52419/2225-1537/2023.1.118-128. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=50433368

REFERENCES

1.Anatomy of a dog. Somatic systems: textbook for universities / N. A. Slesarenko, N.V. Babichev, E.S. Durtkarinov, F.R. Kapustin; edited by N. A. Slesarenko. – 3rd ed., erased. – St. Petersburg: Lan, 2023 – 96 p.: ill. – Text: direct.

2.Bylinskaya, D. S. Pelvic limb muscles of the Eurasian lynx / D. S. Bylinskaya // Hippology and veterinary medicine. – 2013. – № 1(7). – Pp. 35-40. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=19086971

3.Muratova, A. R. Morphofunctional features of the muscles of the joints of the pelvic limb in carnivores / A. R. Muratova, M. V. Lazareva // Collection of the III All-Russian (national) scientific conference "The role of agrarian science in the sustainable development of rural areas". – 2018. – pp. 750-753.

4.Features of the anatomy of the muscles of the knee joint of the Anglo-Nubian goat breed / V. A. Khvatov, D. V. Vasiliev, D. S. Bylinskaya, A. S. Stratonov // Materials of the National scientific conference of the teaching staff, researchers and postgraduates of St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, January 25-29, 2021. – St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2021. – pp. 108-110. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=44736454

5.Slesarenko, N. A. Morphofunctional features of the structure of the knee joint muscles depending on the mechanism of the statolocomotor act / N. A. Slesarenko, E. O. Shirokova, V. A. Ivantsov // Hippology and veterinary medicine. – 2022. – № 1 (43). – Pp. 160-167. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=48157513

6.Stratonov, A. S. Morphofunctional characteristics of the muscles of the stilo and zeigopodia in pigs of the Landrace breed during the newborn period / A. S. Stratonov, M. V. Shchipakin // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. – 2016. – №. 4. – pp. 262-264. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=27515778

7.Shirokova, E. O. Anatomical and topographic features of the quadriceps femoral muscle in the noble spotted deer / E. O. Shirokova, N. A. Slesarenko, E. O. Oganov // Veterinary, animal science and biotechnology. – 2023. – №. 2. – pp. 50-59. Access mode: https://elibrary.ru/item.asp?id=27515778

8.Slesarenko, N. A. Morphofunctional char-

acteristics of knee joint muscles in representatives of the feline family / N. A. Slesarenko, E. O. Shirokova, A. A. Andrievskaya // Veterinary, animal science and biotechnology. – 2022. – № 5. – pp. 6-12. DOI 10.36871/vet.zoo.bio.202205001. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=49230675

9.Features of the distribution of nerves in some muscles of the hip joint in dogs / M. V. Shchipakin, A.V. Prusakov, S. V. Virunen, D. S. Bylinskaya // Topical issues of morphology and biotechnology in animal husbandry: Materials of the International scientific and practical conference dedicated to the 100th anniversary of the birth of Professor O.P. Stulova, Kinel, 16-19 June 2015 / Samara State Agricultural Academy. – Kinel: Samara State Agricultural Academy, 2015. – pp. 56-59. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=50284127

10.Stratonov, A. S. Knee joint muscles in pigs of the Landrace breed at the early stages of postnatal ontogenesis / A. S. Stratonov, M. V. Shchipakin // Materials of the international scientific conference of the teaching staff, researchers and postgraduates of SPbGAVM, St. Petersburg, January 23-27, 2017. – St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2017. – pp. 89-91. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=29107026

11.Stratonov, A. S. Age anatomical and topographic characteristics of the intraorgan venous bed of the pelvic limb muscles of a domestic pig / A. S. Stratonov, M. V. Shchipakin, D. V. Vasiliev // Collection of materials of the All-Russian (national) scientific and practical conference dedicated to the 15th anniversary of the establishment of the Institute of Biotechnology and Veterinary Medicine "Topical issues of development Agrarian Science", Tyumen, October 12, 2021. – Tyumen: State Agrarian University of the Northern Trans–Urals, 2021. - pp. 401-405. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=47439987

12.Yavolovskaya, Ya. O. The skeleton of the pelvic limb belt of the sable of the black Pushkin breed in the age aspect / Ya. O. Yavolovskaya, M. V. Shchipakin // Hippology and veterinary medicine. – 2023. – № 1(47). – Pp. 118-128. – DOI 10.52419/2225-1537/2023.1.118-128. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=50433368

УДК: 615.272:615.22:582.272
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.263

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ БУРЫХ ВОДОРОСЛЕЙ В КАЧЕСТВЕ ПРИРОДНОГО АДАПТОГЕНА

Карпенко Л.Ю.[1] – д-р биол. наук, проф., зав. каф. биохимии и физиологии; **Бахта А.А.**[1] – канд. биол. наук, доц., доц. каф. биохимии и физиологии; **Борисова С.Д.**[1] – асп.; **Бабич О.О.**[2] – д-р техн. наук, доц.; **Сухих С.А.**[2] – д-р техн. наук, доц., зав. лабораторией микробиологии и биотехнологии; **Никонов И.Н.**[2] – канд. биол. наук, ст. науч. сотр.

[1] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
[2] ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени И. Канта»

* l.u.karpenko@mail.ru

Ключевые слова: *бурые водоросли, биохимический состав, полисахариды, фукоидан, альгинаты, липиды, белки*

Keywords*: Brown algae, biochemical composition, polysaccharides, fucoidan, alginates, lipids, proteins*

Благодарность. *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-16-00181, https://rscf.ru/project/23-16-00181/».*

Поступила: 16.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Одна из важнейших тенденций развития современного сельского хозяйства – курс на замещение или полную замену антибиотиков и химических антимикробных средств в рационах питания животных. Целью исследований являлся поиск биологически активных веществ в бурых водорослях, являющихся потенциально стимуляторами неспецифической резистентности организма сельскохозяйственной птицы. Объектами исследований являлись свежие водоросли *Fucus vesiculosus* и *Ascophyllum nodosum,* собранные вручную со скалистых участков в прибрежной зоне Белого моря (в районе села Нюхча, остров Кондостров, Онежский залив) во время отлива в период с августа по октябрь 2023 года. В ходе исследований были изучены биомассы водорослей *Fucus vesiculosus* (*F. vesiculosus*) и *Ascophyllum nodosum* (*A. nodosum*). В данных биосамассах изучали содержание сырого протеина, липидов, влаги, а также полисахаридов фукоидана и альгинатов в образцах. В ходе проведенных исследований, в бурых водорослях Белого моря (фукус пузырчатый и аскофиллум) был выявлен полисахарид фукоидан, являющийся природным стимулятором неспецифического иммунного ответа, способствующий повышению численности бифидобактерий в кишечнике животных. Присутствие фукоидана в высоких концентрациях делает бурые водоросли перспективной основой для производства ветеринарных препаратов и кормовых добавок.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Одна из важнейших тенденций развития современного сельского хозяйства – курс на замещение или полную замену антибиотиков и химических антимикробных средств в рационах питания животных.

Альтернативой кормовым антибиотикам выступает комплекс кормовых добавок – пробиотики, пребиотики, сорбенты токсинов, фитобиотики. Только комплексная программа их применения способна эффективно заменить кормовые антибиотики в рационах питания сельскохозяйственных животных и птицы. Актуальным и перспективным является использование в качестве кормовых добавок компонентов растительного происхождения, способных повышать продуктивность поголовья, стимулировать воспроизводство, улучшать потребительские свойства продукции.

Альтернативный подход к профилактике и лечению инфекций у сельскохозяйственной птицы, в том числе зооантропонозных, заключается в повышении резистентности организма кур, связанной с нормализацией микрофлоры кишечника. Увеличение численности полезных бифидобактерий и лактобацилл, снижение стрессов при смене рационов и при вакцинациях, используемых в традиционных схемах применения ветеринарных препаратов, является залогом построения эффективного барьера на пути опасных патогенов бактериальной природы.

Перспективным источником биологически активных веществ, играющих важную роль в профилактике стрессов у сельскохозяйственной птицы, являются бурые водоросли Белого моря. Бурые водоросли – это природный источник полисахаридов (фукоидан, целлюлоза), липидов, пигментов, белков и свободных аминокислот, полифенольных соединений и доступных микроэлементов (йод, бром). Необходимо отметить, что в условиях короткого светового периода на Крайнем Севере организм растения вырабатывает максимум биологически активных веществ в сравнении с растениями из других биотопов, располагающихся в тропической или бореальной зонах.

В настоящее время бурые водоросли используются, в основном, для производства фармацевтических, пищевых и технических моно- и полисахаридов несмотря на то, что они также богаты белками и аминокислотами. В свою очередь, белковые вещества бурых водорослей обладают широким спектром биологической активности: антиоксидантной, антигипертонической, иммуностимулирующей, радиопротекторной [2].

Изучение возможности применения бурых водорослей в качестве природного адаптогена – основы кормовых добавок и ветеринарных препаратов является актуальным направлением.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Целью исследований являлся поиск биологически активных веществ в бурых водорослях, являющихся потенциально стимуляторами неспецифической резистентности организма сельскохозяйственной птицы.

Объектами исследований являлись свежие водоросли Fucus vesiculosus и Ascophyllum nodosum, собранные вручную со скалистых участков в прибрежной зоне Белого моря (в районе села Нюхча, остров Кондостров, Онежский залив) во время отлива в период с августа по октябрь 2023 года. Слоевища водоросли высушивали на воздухе при атмосферном давлении 760 мм.рт.ст. и температуре воздуха 25 °С в течение 7 суток. Высушенные образцы измельчали (до размера 130 мкм) с помощью универсальной роторной лабораторной мельницы LZM-1 (ALT, Москва, Россия). Образцы измельченных водорослей хранили при комнатной температуре в сухом и темном месте до проведения биохимических испытаний.

Для удобства проведения экспериментов и обсуждения эмпирических результатов исследуемые образцы предварительно пронумеровали:

Образец 1 – биомасса водорослей Fucus vesiculosus (F. vesiculosus);

Образец 2 – биомасса водорослей Ascophyllum nodosum (A. nodosum).

Устанавливали содержание сырого протеина, липидов, влаги, а также полисахаридов фукоидана и альгинатов в образцах.

Содержание сырого протеина в бурых водорослях в пересчете на абсолютно сухое вещество (а.с.в.) оценивали методом Къельдаля (согласно ГОСТ 10846–91. Зерно и продукты его переработки. Метод определения белка). Массовую долю жира в биомассе водорослей оценивали методом экстракции диэтиловым эфиром в аппарате Сокслета. Массовую долю влаги в водорослях определяли в соответствии с ГОСТ 33331–2015. Водоросли, травы морские и продукция из них. Методы определения массовой доли воды, золы и посторонних примесей.

Содержание фукоидана в бурых водорослях устанавливали спектрофотометрическим методом (метод Дише), основанным на проведении цветной реакции фукозы с L-цистеином и серной кислотой и измерении светопоглощения окрашенных растворов при длинах волн 396 и 430 нм [73]. Для измерения светопоглощения растворов использовали мультимодальный планшетный ридер CLARIOstar (BMG LABTECH, Германия).

Количественное определение альгинатов проводили методом, описанным в ГОСТ 26185-84. Водоросли морские, травы морские и продукты их переработки. Методы анализа. Метод основан на обратном титровании серной кислотой избытка гидроксида натрия, оставшегося после ее взаимодействия с альгиновой кислотой, содержащейся в исследуемых образцах бурых водорослей.

Статистическая обработка полученных данных включала вычисление среднего арифметического, определение стандартного отклонения, расчет достоверности по Стьюденту.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты определения содержания сырого протеина, липидов, влаги, фукоидана и альгинатов в образцах бурых водорослей F. vesiculosus и A. nodosum отражены в таблице 1.

Показано, что изучаемые образы бурых водорослей содержали небольшое количество липидов. Так определено, что в образце 1 (биомасса водорослей *F. vesiculosus*) массовая доля липидов составила 4,08±0,12 % , что в 1,2 раза больше солержания липидов в биомассе бурой водоросли *A. nodosum* (образец 2). Следует отметить, что содержание липидов имеет зависимость от времени года [1,9].

Изучаемые образцы бурых водорослей *F. vesiculosus* и *A. nodosum* характеризуются высоким содержанием альгинатов (от 36,65 до 56,81 %) и белка (от 17,3 до 20,8 %). Максимальная концентрация солей альгиновой кислоты (56,81 %) отмечена в образце 2 (*A. nodosum*), а наибольшая концентрация белка (20,8 %) – в образце 1 (*F. vesiculosus*). По содержанию фукоидана лидирует также биомасса водоросли *F. vesiculosus*, содержание которого составляет 3,92 %. Минимальное содержание фукоидана (1,30 %) отмечено в биомассе водоросли *A. nodosum*.

Фукоидан – это сульфатированный гетерополисахарид (молекулярная масса от 43 кДа до 1600 кДа), в основе которого лежат остатки моносахарида L-фукозы, кроме того, содержатся остатки других сахаров, таких как ксилоза, уроновые кис-

Таблица 1 – Химический состав бурых водорослей *F. vesiculosus* и *A. nodosum*

Наименование показателя	Значение показателя для образцов	
	образец 1	образец 2
Содержание белка по Къельдалю на а.с.в., %	20,8±1,1	17,3±0,9
Массовая доля липидов на а.с.в., %	4,08±0,12	3,42±0,09
Массовая доля воды, %	8,04±0,24	9,34±0,28
Массовая доля фукоидана в пересчете на а.с.в., %	3,92±0,12	2,62±0,08
Массовая доля альгинатов в пересчете на а.с.в., %	36,65±1,10	56,81±1,70

лоты и галактоза. Состав и структура фукоиданов зависят от географического положения, сезона сбора/экстракции, стадии роста и применяемого метода экстракции. Сообщалось, что фукоидан обладает антиоксидантной [6], антикоагулянтной [3], противоопухолевой [4], противовоспалительной [7], нейропротекторной [10] активностями. Кроме того, фукоиданы являются потенциальными компонентами противовирусных препаратов и активаторов кроветворения [5].

Что касается содержания фукоидана, для *F. vesiculosus*, обитающего в Белом море (3,92 %, таблица 1), характерно более низкое его содержание по сравнению, например, с данной водорослью, собранной в акватории Баренцева моря (содержание фукоидана от 10 до 14 %) [4]. Авторами работы [6] показано, что содержание фукоидана в фукусовых водорослях Дальневосточного региона варьируется от 1,5 до 7,9 %, что согласуется с данными таблицы 1. Известно, что фукоидан может накапливаться в бурых водорослях в количестве 25–30 % в пересчете на сухую массу. Авторы [8] установили содержание фукоидана и альгиновой кислоты в водорослях *F. vesiculosus*, обитающих в Белом, Балтийском и Баренцевом морях. Содержание фукоидана составило, соответственно, 15,2; 20,6 и 14,7 %, а содержание альгиновой кислоты – 18,5; 17,2 и 14,5 %.

Стоит также отметить, что содержание фукоидана в биомассе бурые водоросли *A. nodosum*, собранной вручную со скалистых участков в прибрежной зоне Белого моря (в районе села Нюхча, остров Кондостров, Онежский залив), составило 2,62±0,08 % а.с.в., что соответствует эмпирическим данным, полученным для данной морской водоросли, и описанным в работах других исследователей [8-9]. Данные исследования показали, что бурые водоросли способны накапливать фукоидан в количестве от 1 до 8 %.

Содержание альгинатов, установленное в образцах водоросли *F. vesiculosus* (таблица 1), в несколько раз (1,98–3,07) превосходит данные, описанные в [6]. Причем показано, что массовая доля солей альгиновой кислоты в биомассе *F. vesiculosus* Баренцева моря значительно зависит от сезона сбора водорослей. Так в летние месяцы содержание альгинтов находится на уровне 20 % (23,97 % в августе), в то время как в апреле их содержание снижается до 8,4 % [4. Этими же авторами изучены сезонные изменения в накоплении фукоидана водорослями рода *Fucus,* и показано, что различия между массовой долей данного полисахарида в августе (14,7 %), декабре (10,0 %) и апреле (12,12 %) незначительны.

ВЫВОДЫ / CONCLUSIONS

Таким образом, в ходе проведенных исследований, в бурых водорослях Белого моря (фукус пузырчатый и аскофиллум) был выявлен полисахарид фукоидан, являющийся природным стимулятором неспецифического иммунного ответа, способствующий повышению численности бифидобактерий в кишечнике животных. Присутствие фукоидана в высоких концентрациях делает бурые водоросли перспективной основой для производства ветеринарных препаратов и кормовых добавок.

Необходимо отметить, что различные препараты, содержащие фукоиданы в качестве биологически активных компонентов, разрабатываются для медицинского применения, например, в перевязочных материалах [8]. Отсутствие токсичности наряду с бактериостатическими свойствами позволяет использовать их в пищевой промышленности, увеличивая сроки хранения продуктов и не подавляя полезную микрофлору человека и животных [11].

PROSPECTS FOR THE USE OF BROWN ALGAE AS A NATURAL ADAPTOGEN

Karpenko L.Yu.[1] – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department. Biochemistry and Physiology; **Bakhta A.A.**[1] cand. Biol. sciences, assoc., assoc. kaf. Biochemistry and physiology; Borisova S.D.1 – asp.; **Babich O.O.**[2] – Doctor of Technical Sciences, associate Profes-

sor; **Sukhoi S.A.**[1] – Doctor of Technical Sciences, Associate Professor, Head. Laboratory of Microbiology and Biotechnology; **Nikonov I.N.**[2] cand. Biol. sciences, art. scientific. sotr.

[1] St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

[2] Immanuel Kant Baltic Federal University

* l.u.karpenko@mail.ru

Gratitude. *The research was supported by the Russian Science Foundation grant No. 23-16-00181, https://rscf.ru/project/23-16-00181/ .*

ABSTRACT

One of the most important trends in the development of modern agriculture is the policy of replacing or completely replacing antibiotics and chemical antimicrobial agents in animal diets.

An alternative to feed antibiotics is a complex of feed additives - probiotics, prebiotics, toxin sorbents, phytobiotics. Only a comprehensive program of their use can effectively replace feed antibiotics in the diets of farm animals and poultry. It is relevant and promising to use components of plant origin as feed additives that can increase the productivity of livestock, stimulate reproduction, and improve the consumer properties of products.

The purpose of the research was to search for biologically active substances in brown algae, which are potential stimulators of nonspecific resistance in poultry. The objects of research were fresh algae Fucus vesiculosus and Ascophyllum nodosum, collected by hand from rocky areas in the coastal zone of the White Sea (near the village of Nyukhcha, Kondostrov Island, Onega Bay) during low tide from August to October 2023. During the research, the biomass of algae Fucus vesiculosus (F. vesiculosus) and Ascophyllum nodosum (A. nodosum) was studied. In these biomassages, the content of crude protein, lipids, moisture, as well as fucoidan polysaccharides and alginates in the samples was studied.

Thus, in the course of the research, fucoidan polysaccharide was identified in brown algae of the White Sea (fucus vesiculosa and ascophyllum), which is a natural stimulator of a nonspecific immune response, contributing to an increase in the number of bifidobacteria in the intestines of animals. The presence of fucoidan in high concentrations makes brown algae a promising basis for the production of veterinary drugs and feed additives.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Biochemical composition of seaweeds from Mandapam coastal regions along Southeast Coast of India / K. Manivannan, G. Thirumaran, G.K. Devi, A. Hemalatha, P. Anantharaman // Am. J. Bot. – 2008. – Vol. 1. – P. 32–37.

2.Bogolitsyn K.G., Kaplitsin P.A., Pochtovalova A.S. Amino-acid composition of arctic brown algae // Chemistry of Natural Compounds. – 2014. – V. 49. – P. 1110-1113.

3.Cumashi A., Ushakova N.A., Preobrazhenskaya M.E., D'Incecco A., Piccoli A., Totani L., Tinari N., Morozevich G.E., Berman A.E., Bilan M.I., et al. A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds // Glycobiology. – 2007. – V. 17. – P. 541–552.

4.De Yan, M. The anti-tumor activity of brown seaweed oligo-fucoidan via LncRNA expression modulation in HepG2 cells / M. De Yan, H.Y. Lin, P.A. Hwang // Cytotechnology. – 2019. – V. 71. – P. 363–374.

5.Influence of modified fucoidan and related sulfated oligosaccharides on hematopoiesis in cyclophosphamide-induced mice / N.Y. Anisimova, N.E. Ustyuzhanina, M.I. Bilan, et al. // Mar. Drugs. – 2018. – V. 16, 333.

6.Koh, H.S.A. Structure characterization and antioxidant activity of fucoidan isolated from Undaria pinnatifida grown in New Zealand // H.S.A. Koh, J. Lu, W. Zhou // Carbohydr. Polym. – 2019. – V. 212. – P. 178–185.

7.Morua V.K., Kim J., Kim E.-K. Algal fucoidan: Structural and size-dependent bioac-

tivities and their perspectives // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2012. – V. 93. – P. 71–82.
8.Potoroko I.Y., Uskova D.G., Pajmulina A.V., Uday B. Ultrasound micronization of fucoidan vegetable ingredient for the use in food production technology // Bull. South Ural. Univ. Ser. Food Biotechnol. – 2019.– V. 7. – P. 58–70.
9.Proximate Composition and Nutritional Value of Three Macroalgae: Ascophyllum nodosum, Fucus vesiculosus and Bifurcaria bifurcata. / J.M. Lorenzo, R. Agregán, P.E.S. Munekata, D. Franco, J. Carballo, S. Şahin, R. Lacomba, F.J. Barba // Mar. Drugs. – 2017. – Vol. 15. – P. 360. https:// doi.org/10.3390/md15110360
10.The structural features of the sulfated heteropolysaccharide (ST-1) from Sargassum thunbergii and its neuroprotective activities / W. Jin, B. Liu, S. Li, et al. // Int. J. Biol. Macromol. – 2018. – V. 108. – P. 307–313.
11.Zinoviev E.V., Lukyanov S.A., Kulminskaya A.A., Lapina I.M., Zhurishkina E.V., Lopatin I.M., Asadulaev M.S., Artsimovich I.V., Kostyakov D.V., Paneakh M.B., et al. Evaluation of the effectiveness of wound dressings based on bacterial cellulose with fucoidan for skin burns // Bull. 148–152.

REFERENCES

1. Biochemical composition of seaweeds from Mandapam coastal regions along Southeast Coast of India / K. Manivannan, G. Thirumaran, G.K. Devi, A. Hemalatha, P. Anantharaman // Am. J. Bot. – 2008. – Vol. 1. – P. 32–37.
2. Bogolitsyn K.G., Kaplitsin P.A., Pochtovalova A.S. Amino-acid composition of arctic brown algae // Chemistry of Natural Compounds. – 2014. – V. 49. – P. 1110-1113.
3. Cumashi A., Ushakova N.A., Preobrazhenskaya M.E., D'Incecco A., Piccoli A., Totani L., Tinari N., Morozevich G.E., Berman A.E., Bilan M.I., et al. A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds // Glycobiology. – 2007. – V. 17. – P. 541–552.
4. De Yan, M. The anti-tumor activity of brown seaweed oligo-fucoidan via LncRNA expression modulation in HepG2 cells / M. De Yan, H.Y. Lin, P.A. Hwang // Cytotechnology. – 2019. – V. 71. – P. 363–374.
5. Influence of modified fucoidan and related sulfated oligosaccharides on hematopoiesis in cyclophosphamide-induced mice / N.Y. Anisimova, N.E. Ustyuzhanina, M.I. Bilan, et al. // Mar. Drugs. – 2018. – V. 16, 333.
Koh, H.S.A. Structure characterization and antioxidant activity of fucoidan isolated from Undaria pinnatifida grown in New Zealand // H.S.A. Koh, J. Lu, W. Zhou // Carbohydr. Polym. – 2019. – V. 212. – P. 178–185.
6. Morua V.K., Kim J., Kim E.-K. Algal fucoidan: Structural and size-dependent bioactivities and their perspectives // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2012. – V. 93. – P. 71 –82.
7. Potoroko I.Y., Uskova D.G., Pajmulina A.V., Uday B. Ultrasound micronization of fucoidan vegetable ingredient for the use in food production technology // Bull. South Ural. Univ. Ser. Food Biotechnol. – 2019.– V. 7. – P. 58–70.
8. Proximate Composition and Nutritional Value of Three Macroalgae: Ascophyllum nodosum, Fucus vesiculosus and Bifurcaria bifurcata. / J.M. Lorenzo, R. Agregán, P.E.S. Munekata, D. Franco, J. Carballo, S. Şahin, R. Lacomba, F.J. Barba // Mar. Drugs. – 2017. – Vol. 15. – P. 360. https:// doi.org/10.3390/md15110360
10. The structural features of the sulfated heteropolysaccharide (ST-1) from Sargassum thunbergii and its neuroprotective activities / W. Jin, B. Liu, S. Li, et al. // Int. J. Biol. Macromol. – 2018. – V. 108. – P. 307–313.
11. Zinoviev E.V., Lukyanov S.A., Kulminskaya A.A., Lapina I.M., Zhurishkina E.V., Lopatin I.M., Asadulaev M.S., Artsimovich I.V., Kostyakov D.V., Paneakh M.B., et al. Evaluation of the effectiveness of wound dressings based on bacterial cellulose with fucoidan for skin burns // Bull. Russ. Mil. Med. Acad. – 2019. – V. 1. – P. 148–152.

УДК: 004.93'11 612:636.2.
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.269

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ТРЕБОВАНИЙ К ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СИСТЕМЕ ВИДЕОМОНИТОРИНГА ДЛЯ АНАЛИЗА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ КОРОВ И ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ЕГО ИЗМЕНЕНИЯ

Ачилов В.В.[1,2*] – канд. ветеринар. наук, доц. кафедры генетических и репродуктивных биотехнологий; **Олонцев В.А.**[1,2] – асп. кафедры кормления и разведения животных.

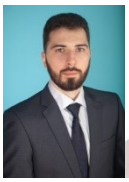
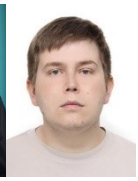
[1]ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
[2]ФГБУН «Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр Российской академии наук»

* achilov.vadim@mail.ru

Ключевые слова: *видеомониторинг, сигналы коров, физиологическое состояние, прогнозирование, управление молочным стадом.*
Key words: *video monitoring, cow signals, physiological state, forecasting, dairy herd management.*

Финансирование: *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-19-20081, https://rscf.ru/project/23-19-20081/ и Санкт-Петербургского научного фонда*

Поступила: 10.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023

РЕФЕРАТ
На современном этапе развития молочного животноводства основной задачей, стоящей перед отраслью, становится эффективное управление всеми процессами, обеспечивающими работу фермы с большим поголовьем. Поставленная задача будет не достижима без использования цифровых интеллектуальных систем контроля и управления производством, отслеживания здоровья животных и их продуктивности. Существует множество систем, интегрирующихся в производство и позволяющих отслеживать здоровье коров на молочной ферме. Эти системы базируются на идентификации, отслеживании и сборе информации о физиологическом состоянии животных за счет различных датчиков. Однако, все эти системы дорогостоящие, требовательны к обслуживанию, часто выходят из строя из-за агрессивных условий эксплуатации. В статье рассмотрена возможность использования интеллектуальной системы видеомониторинга для анализа физиологического состояния коров и прогнозирования его изменения. Для обоснования требований к интеллектуальной системе видеомониторинга физиологического состояния коров предложена математическая модель жизни

продуктивных коров в виде графа состояний. Данный метод графически отображает возможные состояния системы и их возможные переходы из состояния в состояние. Построив граф состояний, опираясь на центральную теорему вероятностей для потоков событий, можно с использованием дифференциальных уравнений определить вероятность и интенсивность переходов состояний. Для функционирования системы видеомониторинга анализа физиологического состояния коров и прогнозирования его изменения предложенная математическая модель может являться основой системы и базироваться на сборе и анализе видеоинформации о поведении животных. При покрытии видеокамерами всей территории жизненного пространства животных, интеллектуальная система видеомониторинга сможет обеспечивать раннюю диагностику изменения физиологического состояния наблюдаемых животных и выдавать предупреждение, что позволит проводить своевременные лечебные и профилактические мероприятия.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

На современном этапе развития молочного животноводства основной задачей, стоящей перед отраслью, становится эффективное управление всеми процессами, обеспечивающими работу фермы с большим поголовьем. Поставленная задача будет не достижима без использования цифровых интеллектуальных систем контроля и управления производством, отслеживания здоровья животных и их продуктивности. Существует множество систем, интегрирующихся в производство и позволяющих отслеживать здоровье коров на молочной ферме, реализуя тем самым концепцию «Умного животноводства» [9]. Все эти системы базируются на идентификации, отслеживании и сборе информации о физиологическом состоянии животных за счет различных датчиков (температурных, шагомерах, акселерометрах, датчиках давления, внутрирубцовых датчиках анализа среды и др.) информация, получаемая от которых, часто интегрируется в системы управления молочной фермой, где её можно отслеживать, накапливать и анализировать [1,2,3,5]. Однако, все эти системы дорогостоящие, требовательны к обслуживанию, часто выходят из строя из-за агрессивных условий эксплуатации.

Высокие уровни концентрации поголовья, молочной продуктивности и инвестиций многократно повышают требования к качеству управления молочным стадом и производимой продукции. Растет актуальность разработки концептуально новых, эффективных технологий сбора и анализа информации, обеспечивающих оперативный контроль здоровья и физиологического состояния животных для принятия специалистами эффективных решений, своевременной организации необходимых зооветеринарных мероприятий, корректировки рационов кормления. Анализ основных причин выбраковки коров в племенных хозяйствах свидетельствует, что большую часть болезней при беспривязном содержании коров с доением в доильных залах можно выявить и предотвратить на ранних стадиях, тщательно фиксируя и оперативно реагируя на «сигналы коров», характеризующие активность, особенности передвижения, нахождение в различных зонах животноводческих помещений, потребление корма и воды, руминацию, внешний вид. Рост требований к системе мониторинга здоровья и физиологического состояния высокопродуктивных коров на крупных молочных комплексах, возможности и ограничения существующих автоматических систем мониторинга здоровья и физиологического состояния животных, вызывают необходимость разработки и освоения в молочном животноводстве цифровых технологий обработки и анализа визуальной информации [10].

Объективные биологические и физиологические свойства коров делают их менее других видов домашних животных приспособленными к индустриальному производству «конвейерного» типа. Каждая корова в крупных сельскохозяйственных организациях, несмотря на все достижения селекционно-племенной работы и определенную однотипность применяемых в производстве молока технологий,

обладает выраженными индивидуальными характеристиками, существенными генетическими и фенотипическими различиями животных друг от друга в крупных стадах. Это отличается от промышленного птицеводства и свиноводства, где продуктивные животные гораздо более стандартизированы.

В молочном животноводстве России ни одна из систем управления стадом не объединяет производственную информацию о производительности и результатах производственного процесса, здоровье и физиологическом состоянии животных, количестве и структуре задействованных в производственном процессе ресурсов, получаемую от цифровых сенсоров и датчиков, с экономической информацией, что затрудняет оценку эффективности их освоения, тормозит широкое распространение цифровых технологий в молочном животноводстве [6]. Повышению темпов освоения цифровых технологий могут способствовать исследования, конкретизирующие требования к необходимой экономической информации, к способам ее сбора, анализа и использования в аналитических системах, ее интеграции с собираемой и анализируемой производственной информацией, информацией о здоровье животных и их воспроизводительных функциях [4]. Использованием новых возможностей цифровых технологий по сбору, хранению, анализу и представлению информации можно достоверно выявить, на основе интеграции и анализа большого объема разнородной объективной информации, влияние на производственные параметры применения тех или иных технологических приемов и интенсивности использования отдельных ресурсов.

Нерешенной проблемой при оценке эффективности освоения цифровых технологий является необходимость одновременного учета как краткосрочных, так и долгосрочных результатов, достигаемых за счет повышения качества управления производственным процессом при повышении интенсивности использования отдельных видов ресурсов [8].

Таким образом, разработка научно обоснованных подходов к формированию системы цифровых технологий в молочном животноводстве является объективно необходимой. Они дополняют и обеспечивают рост молочной продуктивности и эффективности производства молока. В связи с вышеизложенным, целью исследований являлось теоретическое обоснование требований к интеллектуальной системе видеомониторинга в реальном хозяйстве и учет полученных данных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Для обоснования требований к интеллектуальной системе видеомониторинга физиологического состояния коров необходимо представить жизнь животного на ферме в виде математической модели или системы. Поскольку живой организм является сложной биологической системой динамично изменяющейся под воздействием внешних и внутренних факторов для анализа процессов, протекающих в этой системе, можно использовать метод, предусматривающий формализацию процесса в виде графа состояний. Данный метод графически отображает возможные состояния системы и их возможные переходы из состояния в состояние. Построив граф состояний, опираясь на центральную теорему вероятностей для потоков событий, можно с использованием дифференциальных уравнений определить вероятность и интенсивность переходов состояний. Чем быстрее будут выявлены и устранены возможные заболевания, тем выше будет качество производимой продукции и экономическая эффективность молочного стада. Изменение интенсивности переходов из одного состояния в другое будет основой для определения характеристик системы мониторинга.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

После анализа данных программного обеспечения для управления молочным стадом, журналов зоотехнического и ветеринарного учета в нескольких племенных хозяйствах Ленинградской области, возможных состояний, в которых может находиться молочная корова, в процессе

продуктивной жизни и учитывая возможность перехода из состояния в состояние, совместно с научным коллективом из Санкт-Петербургского Федерального исследовательского центра Российской академии наук под руководством профессора д.т.н Осипова В.Ю. была сформирована модель, представленная на рисунке 1 [7].

В качестве состояний были выделены 1 – выранжировка, 16 – выбраковка, состояния со 2 по 8 соответствовали состояниям здоровых животных, состояния с 9 по 15 состояниям больных животных. Переход из больного состояния в здоровое и наоборот соответствовал физиологическому состоянию соотнесенному с производственным циклом: 2 и 9 – не осемененные коровы в фазе стабилизации лактации, 3 и 10 – стабилизация лактации коров (охота, осеменение, первый этап стельности), 4 и 11 – спад лактации коров (интенсивный рост плода и снижение молочной продуктивности), 5 и 12 – сухостойный период, 6 и 13 – транзитный период до отела, 7 и 14 – отёл и послеродовый период, 8 и 15 – раздой. Как видно на рисунке 1 животные, в соответствии с производственным циклом, переходят из одного физиологического состояния в другое. Переходы состояний обозначены стрелками между графами состояний. На каждом, этапе при развитии патологических процессов, животное может перейти в больное состояние и уже в таком состоянии двигаться по производственной цепи. При этом продуктивность больного животного будет снижена, как и качество продукции. Также, находясь в любом графе состояний с 9 по 15 животное может быть выбраковано. Усилия ветеринарной службы животноводческих хозяйств направлены на то, чтобы животные находились в здоровом состоянии. Так или иначе, на любом из этапов производственной цепи, животное может перейти в больное состояние, а при выявлении этого состояния и проведении лечебных мероприятий перейти в здоровое. Для работоспособности модели нам нужно знать интенсивности переходов процесса из одних состояний в другие, которые можно рассчитать, как обратные величины среднего времени переходов. На примере цеха раздоя, 8 и 15 граф, можно рассмотреть каким образом рассчитывается интенсивность переходов используя формулу:

$$\lambda_{8,15} = \sum_{z=1}^{z_{8,15}} \lambda_{8,15,z}$$

где – интенсивность перехода из состояния 8 в состояние 15 при развитии z-го заболевания; - число возможных видов заболеваний коров, находящихся в состоянии 8, при переходе в состояние 15.

На примере одного из животноводческих хозяйств Ленинградской области можно рассмотреть количество выявленных заболеваний в цеху раздоя за определенный период времени.

В цеху раздоя постоянно находятся 400±26 коров, ежемесячная выбраковка из этого цеха составляет 3,75±0,6%. Основные причины выбраковки мастит – 56%, болезни конечностей – 27%, гинекологические патологии – 10%, прочие причины – 7%. По распространенности патологий в цеху раздоя у 15,3±6,9 % выявляют болезни молочной железы, 11,3±4,2% – болезни конечностей, 8,4±3,5% – гинекологические патологии, 5,7±2,9% – прочие патологии.

Теперь, для определения интенсивности перехода нужно найти среднее время перехода из здорового состояния в больное для каждой патологии. Для этого потребуется проведение наблюдений и исследований, а также анализ литературных данных. Зная среднее время перехода из одного состояния в другое, можно суммировав их определить интенсивность переходов. На следующем этапе можно будет определить подобные интенсивности на других производственных участках, соответствующих графу состояний 2 и 9, 3 и 10, 4 и 11 и т.д. в соответствии с моделью (рис. 1). Если нам будут известны все интенсивности переходов, то при определении вероятности развития патологических процессов и с использованием обще-

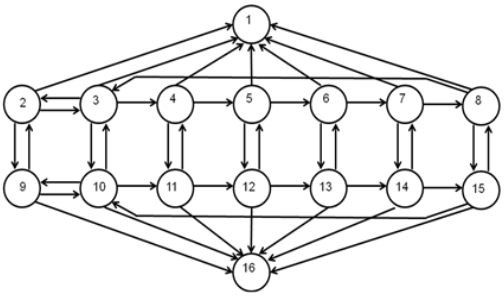


Рисунок 1 – Модель продуктивной жизни коров в виде графа состояний.



2 – Динамика переходов в цеху раздоя.

принятых математических методик, для решения уравнений применимых к модели граф состояний, можно обосновать главное требование к системе видеомониторинга – наличие действующей математической модели вокруг которой будет строится многокомпонентная система мониторинга для раннего прогнозирования заболеваний с помощью интеллектуального анализа видеопотоков.

Для функционирования системы видеомониторинга анализа физиологического состояния коров и прогнозирования его изменения предложенная математическая модель будет являться основой системы и базироваться на сборе и анализе видеоинформации о поведении животных. Такие возможности системы могут быть доступными при достаточном количестве информации заложенной в виде переменных, включающих в себя: цифровые материалы животных при разных патологиях, активность животных здоровых и больных, температуру тела, анализ походки в норме и при патологии, данные о поведении животных в разные физиологические периоды, а так же о поведении больных животных. Дополнительные источники данных о состоянии животных такие как тепловизоры и инфракрасные камеры, метки радиочастотной идентификации, датчики вокализации, помимо видеоинформации, смогут дополнять систему и расширять спектр её возможностей за счет агрегирования данных как о каждом животном, так и о групповом состоянии молочного стада.

Таким образом, архитектура предложенной нами системы видеомониторинга будет включать в себя: модуль сбора информации о животных при помощи сети видеокамер и датчиков для отслеживания животных; нейросетевой классификатор определения состояний животных по визуальным признакам; нейросетевой модуль обученный в соответствии с предложенной моделью, выдающий прогноз об изменении состояния животного; модуль формирующий предупреждение о возможном развитии заболевания у идентифицированного животного.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Предложенная модель, при интеграции в систему непрерывного видеомониторинга, при покрытии видеокамерами всей территории жизненного пространства животных, сможет обеспечивать раннюю диагностику изменения физиологического состояния наблюдаемых животных и выдавать предупреждение, что позволит проводить своевременные лечебные и профилактические мероприятия, сохраняя животных в здоровом состоянии. Это позволит получать от животных больше продукции, более высокого качества, продлить продуктивный срок их жизни, сэкономить на лечении.

THEORETICAL SUBSTANTIATION OF THE REQUIREMENTS FOR AN INTELLIGENT VIDEO MONITORING SYSTEM FOR ANALYZING THE PHYSIOLOGICAL STATE OF COWS AND PREDICTING ITS CHANGES

Achilov V.V.[1,2*] – Ph.D., Associate Professor of the Department of Genetic and Reproductive Biotechnologies, **Olontsev V.A.**[1,2] – postgraduate student of the Department of Animal Feeding and Breeding.

[1] St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

[2] St. Petersburg Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences

* achilov.vadim@mail.ru

Financing: *The research was carried out at the expense of the grant of the Russian Science Foundation No. 23-19-20081, https://rscf.ru/project/23-19-20081 / and the St. Petersburg Scientific Foundation*

ABSTRACT

At the present stage of development of dairy farming, the main task facing the industry is the effective management of all processes that ensure the operation of a farm with a large livestock. This task will not be achievable without the use of digital intelligent production control and management systems, tracking the health of animals and their productivity. There are many systems that integrate into production and allow you to monitor the health of cows on a dairy farm. These systems are based on the identification, tracking and collection of information about the physiological state of animals through various sensors. However, all these systems are expensive, demanding to maintain, often fail due to aggressive operating conditions. The article considers the possibility of using an intelligent video monitoring system to analyze the physiological state of cows and predict its changes. To substantiate the requirements for an intelligent video monitoring system of the physiological state of cows, a mathematical model of the life of productive cows in the form of a graph of states is proposed. This method graphically displays the possible states of the system and their possible transitions from state to state. Having constructed a graph of states, relying on the central probability theorem for event flows, it is possible to determine the probability and intensity of state transitions using differential equations. For the functioning of the video monitoring system for analyzing the physiological state of cows and predicting its changes, the proposed mathematical model can be the basis of the system and be based on the collection and analysis of video information about animal behavior. When covering the entire territory of the animal's living space with video cameras, the intelligent video monitoring system will be able to provide early diagnosis of changes in the physiological state of the observed animals and issue a warning, which will allow for timely therapeutic and preventive measures.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Иванов, Ю. Г. Системы дистанционного контроля сигналов коров / Ю. Г. Иванов, Г. П. Дюльгер, М. С. Сидоренко // Зоотехния. – 2014. – № 12. – С. 6-7.

2.Разработка методов и средств зоотехнического контроля в скотоводстве для управления физиологическим состоянием стада / Ф. Е. Владимиров, С. О. Базаев, Д. Ю. Павкин, С. С. Юрочка // Главный зоотехник. – 2023. – № 1(234). – С. 32-46. – DOI 10.33920/sel-03-2301-04.

3.Кирсанов В.В., Павкин Д.Ю., Владимиров Ф.Е., Никитин Е.А., Юрочка С.С., Гелетий Д.Г. Контроль и управление подсистемой «Животное» в сложной биотехнической системе «Человек-Машина-Животное» молочной фермы // Агроинженерия. 2020. No 6 (100). С. 4-10. DOI: 10.26897/2687-1149-2020-6-4-10.

4.Кирсанов В.В., Владимиров Ф.Е., Павкин Д.Ю. и др. Сравнительный анализ и подбор систем мониторинга здоровья КРС // Вестник Всероссийского научно-исследовательского института механизации животноводства. 2019. No 1 (33). С. 27-31.

5.Цифровые технологии мониторинга здоровья коров / В. Н. Суровцев, И. К. Шульгин, В. Д. Лужняк, О. В. Погодина // Молочное и мясное скотоводство. – 2021. – № 5. – С. 2-6. – DOI 10.33943/MMS.2021.10.13.001.

6.Шульгин И.К., Лужняк В.Д., Суровцев В.Н., Хазанов В.Е., Гордеев В.В. Цифровая трансформация производственных процессов в молочном скотоводстве Ленинградской области. Молочное и мясное скотоводство. 2022. № 4. С. 3-8.
7.Осипов В.Ю. Кулешов С.В., Суровцев В.Н., Никулина Ю.Н. Метод оценки экономической эффективности цифровых технологий в молочном животноводстве с учетом изменений параметров процесса. Доклад на Пятой международной научно-практической конференции "Аграрная экономика в условиях глобализации и интеграции" (AGEGI-2023). 20-21 июня 2023 г. НИОПТУСХ – филиал ФГБНУ ФНЦ ВНИИЭСХ
8.Суровцев В.Н., Никулина Ю.Н., Зайцева А.А. Анализ методов оценки экономической эффективности цифровых технологий в молочном скотоводстве. Экономика сельского хозяйства России. 2023. № 8. С. 55-63.
9.Владимиров Ф.Е., Базаев С.О., Хакимов А.Р. Разработка цифровой системы для оценки физиологического состояния крупного рогатого скота. Аграрная наука. 2023; 375(10): 73–78. https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-375-10-73-78
10.Цифровые технологии мониторинга здоровья коров / В. Н. Суровцев, И. К. Шульгин, В. Д. Лужняк, О. В. Погодина // Молочное и мясное скотоводство. – 2021. – № 5. – С. 2-6. – DOI 10.33943/MMS.2021.10.13.001.

REFERENCES

1. Ivanov, Yu. G. Systems of remote control of cow signals / Yu. G. Ivanov, G. P. Dyulger, M. S. Sidorenko // Zootechniya. – 2014. – No. 12. – pp. 6-7.
2. Development of methods and means of zootechnical control in cattle breeding for the management of the physiological state of the herd / F. E. Vladimirov, S. O. Bazaev, D. Y. Pavkin, S. S. Yurochka // Chief zootechnic. – 2023. – № 1(234). – Pp. 32-46. – DOI 10.33920/sel-03-2301-04.
3. Kirsanov V.V., Pavkin D.Yu., Vladimirov F.E., Nikitin E.A., Yurochka S.S., Gelety D.G. Control and management of the "Animal" subsystem in a complex biotechnical system "Man-Machine-Animal" dairy farm // Agroengineering. 2020. No. 6 (100). pp. 4-10. DOI: 10.26897/2687-1149-2020-6-4-10.
4. Kirsanov V.V., Vladimirov F.E., Pavkin D.Yu., etc. Comparative analysis and selection of cattle health monitoring systems // Bulletin of the All-Russian Scientific Research Institute of Animal Husbandry Mechanization. 2019. No. 1 (33). pp. 27-31.
5. Digital technologies for monitoring cow health / V. N. Surovtsev, I. K. Shulgin, V. D. Luzhnyak, O. V. Pogodina // Dairy and meat cattle breeding. – 2021. – No. 5. – pp. 2-6. – DOI 10.33943/MMS.2021.10.13.001.
6. Shulgin I.K., Luzhnyak V.D., Surovtsev V.N., Khazanov V.E., Gordeev V.V. Digital transformation of production processes in dairy cattle breeding of the Leningrad region. Dairy and beef cattle breeding. 2022. No. 4. pp. 3-8.
7. Osipov V.Yu. Kuleshov S.V., Surovtsev V.N., Nikulina Yu.N. Method of assessing the economic efficiency of digital technologies in dairy farming taking into account changes in process parameters Report at the Fifth International Scientific and Practical Conference "Agrarian economy in the context of globalization and integration" (AGEGI-2023). June 20-21, 2023 NIOPTUSKH – branch of FGBNU FNC VNIIESH
8. Surovtsev V.N., Nikulina Yu.N., Zaitseva A.A. Analysis of methods for assessing the economic efficiency of digital technologies in dairy cattle breeding. The economics of agriculture in Russia. 2023. No. 8. pp. 55-63.
9. Vladimirov F.E., Bazaev S.O., Khakimov A.R. Development of a digital system for assessing the physiological state of cattle. Agricultural science. 2023; 375(10): 73-78. https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-375-10-73-78
10. Digital technologies for monitoring cow health / V. N. Surovtsev, I. K. Shulgin, V. D. Luzhnyak, O. V. Pogodina // Dairy and meat cattle breeding. – 2021. – No. 5. – pp. 2-6. – DOI 10.33943/MMS.2021.10.13.001.

УДК: 619
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.4.276

ОСОБЕННОСТИ АДАПТАЦИИ ОРГАНИЗМА ИНДЕЕК В УСЛОВИЯХ ПТИЦЕФАБРИКИ

Козлова С.В. – канд. биол. наук, доц. каф. незаразных болезней сельскохозяйственных животных (ORCID 0000-0002-1431-9720); **Веремеева С.А.** – канд. ветеринар. наук, доц. кафедры анатомии и физиологии (ORCID 0000-0002-3656-6837); **Краснолобова Е.П. *** – канд. ветеринар. наук, доц. кафедры анатомии и физиологии (ORCID 0000-0002-2260-5639); **Черменина Н.А.** – канд. биол. наук, доц. каф. анатомии и физиологии (ORCID 0000-0001-9509-2013); **Ломдо А.И.** – асп.

ФГБОУ ВО «Государственный аграрный университет Северного Зауралья»

*krasnolobovaep@gausz.ru

Ключевые слова: *адаптация, физиологические особенности, индейки, интенсивные технологии, кросс, Hybrid Converter novo.*

Key words: *adaptation, physiological features, turkeys, intensive technologies, cross, Hybrid Converter novo.*

Поступила: 02.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Работа посвящена изучению адаптационных особенностей у кросса индеек *Hybrid Converter novo* в условиях птицефабрики, расположенной на юге Тюменской области. Целью работы явилось исследовать адаптационные способности организма индеек в условиях птицефабрики в Тюменской области. Научно-исследовательская работа выполнялась на кафедре анатомии и физиологии ФГБОУ ВО «Государственный аграрный университет Северного Зауралья» и в условиях птицефабрики ООО «Абсолют-Агро». Объектом исследования - индейки разных возрастов и пола кросса *Hybrid Converter novo*. Исследования проводили по общепринятым методикам изучение возрастной динамики абсолютной массы, температуры тела, частоту дыхательных движений, вычислен коэффициент адаптации. Физиологические показатели температура, частота дыхания измерялись у 72 голов индеек-бройлеров в возрасте – 21 день, 42, 64, 82, 105 и 126 дней. Анализируя полученные данные можно говорить о том, что у самцов индеек процесс адаптации идет более равномерно и быстро после проявления полового деморфизма, на что указывает равномерный рост абсолютной массы, небольшое отклонение от фактической массы от нормативной и постепенное снижение коэффициента адаптации от 1,032 в возрасте 42 дня до 0,987 в возрасте 126 дней. У самок же адаптационные способности организма более слабые, на что указывает резкие колебания фактической массы от нормативных значений, а также резкое повышение коэффициента адаптации в 42 и 82 дня.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Индустриальная технология птицеводства предполагает создание таких ограничений для птицы, которые в филогенезе вида прежде не встречались. Приобретая ценный племенной материал, многие хозяйственники упускают вопрос по адаптации животных и птиц к конкретным условиям. Попадая в новые природно-климатические условия организмы претерпевают ряд биологических изменений [13, 16]. При этом интенсификация производства предполагает повышение стрессорных воздействий, которые отрицательно влияют на морфофункциональные особенности индеек. Птица трудно выдерживает условия пожизненного содержания в корпусах, происходит перенапряжение её физиологических функций [1-5, 9-11]. Все эти факторы снижает общую резистентность её организма к действующим факторам среды обитания.

Организм птиц не может длительно находиться в стрессовом состоянии. Функционирование на пределе возможностей позволяет ему быстро мобилизовать функциональные и пластические резервы на повышение общей неспецифической устойчивости организма и, если действие стрессора было непродолжительным, формирование адаптационного эффекта. В противном случае перенапряжение функций организма способствует развитию у птиц дистрофических и патологических процессов, снижающих продуктивность и вызывающих гибель. Организм птицы способен адаптироваться к хроническим стресс-воздействиям, но медленно [12, 14, 15,19, 20].

Целью научно-исследовательской работы явилось исследовать адаптационные способности организма индеек в условиях птицефабрики в Тюменской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHOD

Научно-исследовательская работа выполнялась в условиях птицефабрики ООО «Абсолют-Агро», кафедры анатомии и физиологии института биотехнологии и ветеринарной медицины ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья. Работа выполнялась в период с 2022 по 2023 год в рамках научно-исследовательского проекта Министерства сельского хозяйства «Разработка механизмов адаптации и способов повышения продуктивности индеек в условиях Северного Зауралья» (31-1) 1022071200019-1-4.3.1.

В ходе работы объектом исследования являлись индейки разных возрастов и пола, которые выращивались в корпусах напольного содержания на глубокой несменяемой подстилке, с общей численностью поголовья по 11000. Продолжительность выращивания самок составляла 105 дней, самцов - 126 дней. Согласно применяемой технологии выращивания индюшата в возрасте 41 дня подвергались перегруппировке, с рассаживанием самок и самцов в отдельные секции корпуса. В период исследования параметры условий содержания птицы соответствовали зоогигиеническим требованиям с учетом возраста и климатических условий, при этом диапазон средних температурных колебаний составлял 20-37^{0}С при влажности воздуха не более 60%.

С целью проведения анализа возрастной динамики абсолютной массы, отхода птицы, были изучены отчеты, журналы первичной отчетности, круговые по корпусам. Абсолютная масса тела определялась методом взвешивания на весах МВК -12.

Для исследования физиологических параметров адаптации индейки к условиям птицефабрики были исследованы температура, частота дыхательных движений.

Для исследования температуры тела использовали специальные электронные термометры, которые могут измерять температуру до 45-46^{0}С. У птицы температуру исследовали в клоаке, путем введения термометра, предварительно смазанного вазелином, на глубину 2 см вправо по направлению прямой кишки. Температура тела может колебаться в зависимости от возраста, условий содержания, кормления, времени измерения, температуры воздуха, породы. Температура тела индеек в норме составляет 40,5-41^{0}С.

Частоту дыхания (ЧДД) подсчитывали осмотром экскурсии нижней части живота ниже клоаки (у птиц нет диафрагмы, в акте дыхания значительная роль принадлежит мускулатуре брюшного пресса). Во время подсчета частоты дыхания отмечали характер дыхания (нормальное, напряженное с вытянутой шеей и открытым клювом, шумы и свисты при дыхании). Частота дыхания индеек в норме составляет 15-20 движений в минуту.

Коэффициент адаптации (КА) рассчитывали по формуле [17].

$$КА = \frac{\text{Температура тела дневная} + \text{ЧДД дневная}}{\text{Температура тела утренняя} + \text{ЧДД утреннее}}$$

Физиологические показатели температура, частота дыхания измерялись у 72 голов индеек-бройлеров в возрасте – 21 день, 42, 64, 82, 105 и 126 дней.

Полученные цифровые данные подвергались статистической обработке статистической обработке по Стьюденту с использованием MS Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Развитие – это процесс, для которого характерно непрерывность качественных изменений, в результате которых и формируется организм с определенными показателями индивидуальными для отдельно взятого организма. Показатели роста и развития отражают изменения, происходящие на уровне клеток организма. На сегодня установлена зависимость интенсивности роста и развития организма от его видовых, породных, линейных особенностей [6-8]. В связи с этим были изучена возрастная динамика абсолютной массы у самок и самцов на птицефабрике, а также отклонение фактических значений абсолютной массы тела от нормативных, которые отражены на рисунках 1, 2, 3.

При изучении отклонения от фактических значений абсолютной массы тела по возрастам и полу (рис. 3) отмечаются резкие отклонения факта от нормы у самок в возрасте 14 дней (увеличена на 40,03%), 112 дней (увеличена на 33%), 21 день (увеличена на 21,35%), 7 дней (увеличена на 20,65%), 42 дня увеличена на 11,54%) и 35 дней (увеличена на 10,51%). В остальные периоды масса немного превосходит нормативную. У самцов отмечается увеличение на 14 день (увеличена на 40,03%), 21 день (увеличена на 21,35%), 7

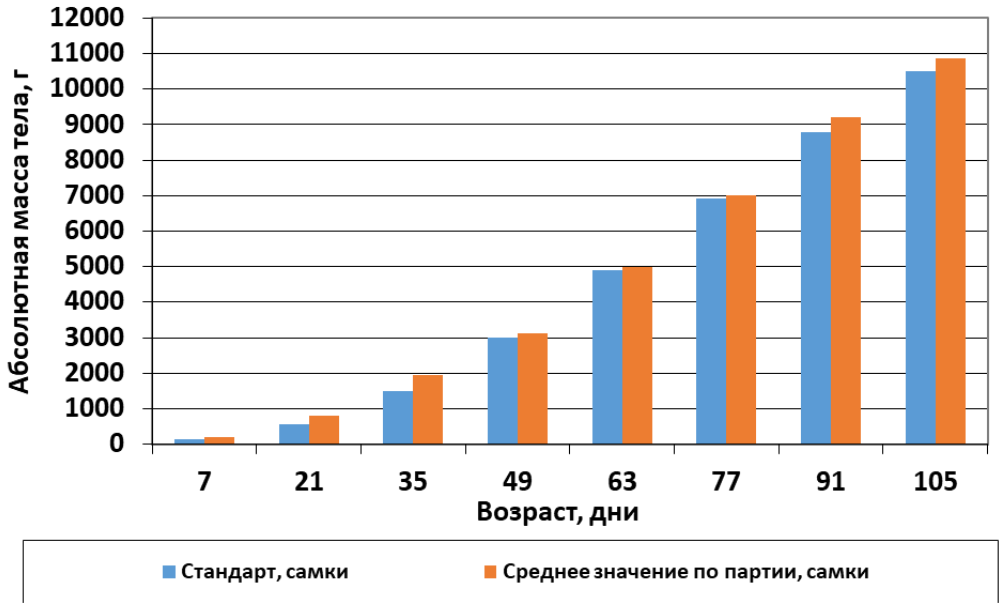


Рисунок 1 – Возрастная динамика абсолютной массы тела самок индеек, г.

дней (увеличена на 20,65%), 35 дней (увеличена на 10,51%). В остальные дни откорма фактическая масса превосходит нормативную в диапазоне от 0 до 8%, а в 56 дней меньше на 0,29%. В связи с этим можно говорить о неравномерности развития цыплят, особенно самок.

Определение адаптационных реакций рассматривается как один из важных критериев здоровья, поэтому предлагается использовать способ диагностики уровня здоровья по коэффициенту адаптации [18]. В коэффициент адаптации входит такой показатель, как температура тела. Эволюционно сложившаяся константа – сохранение температуры тела. При этом особое значение имеет ее поддержание при изменении внешних условий [17]. Для анализа адаптационного показателя были проведены измерения показателей температуры и частоты дыхательных движений у разных возрастных групп индейки (в возрасте 21, 42, 64, 82, 105 и 126 дней). Были посчитаны средние значения показателей, которые представлены на рисунке 4.

По данным рисунка 4 можно сделать вывод, что температура в исследуемых группах соответствует норме. Частота дыхания же превышает норму. Данное исследование проводилось в летнее время на пике жары, из-за чего температура в корпусе поднималась выше нормы, соответственно частота дыхания увеличивалась. При этом самая высокая ЧДД регистрировалась у самок в 82 дня и у самцов в 64 и 105 дней.

Изучая динамику коэффициента адаптации (рис. 5) относительно возраста и пола было установлено, что в возрастных группах самок коэффициент адаптации имеет колебания в пределах от 1,003 до 1,031. В группе самцов колебания составляют от 0,987 до 1,031.

Наибольшее значение, подтверждающее состояние напряженности у самок замечено в возрасте 42 дней, как и у самцов. Можно предположить, что причиной этого является перегруппировка птицы. Установлена разница между значениями коэффициента в группа самцов и самок в возрасте 64 дня. При этом у самок значения показателя выше, чем у самцов. В группах самцов и самок возраста 82 дня, коэффициент имеет значения больше, чем у самок. При этом отмечается равномер-

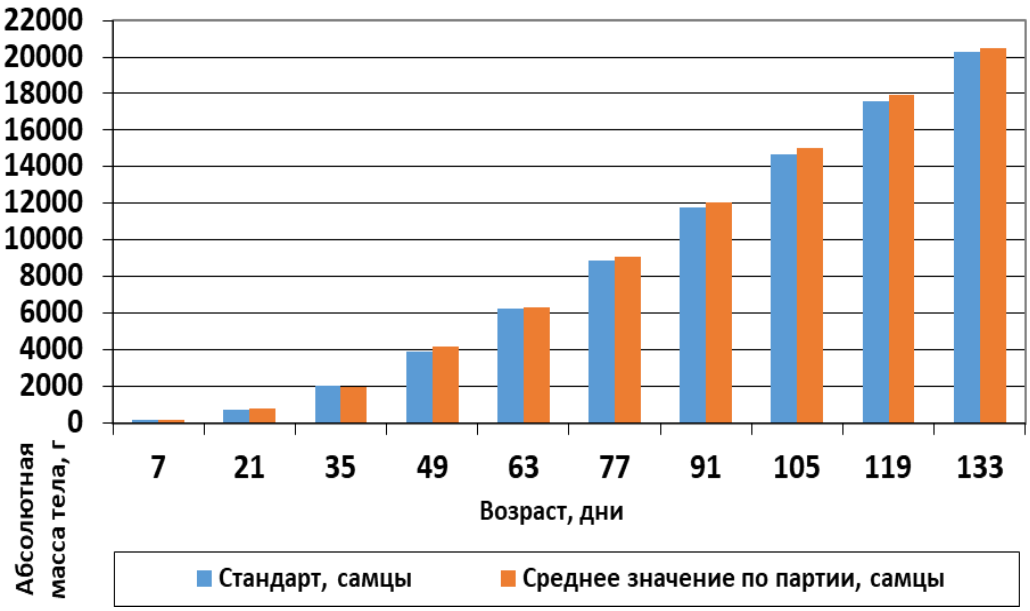


Рисунок 2 – Возрастная динамика абсолютной массы тела самцов индеек, г.

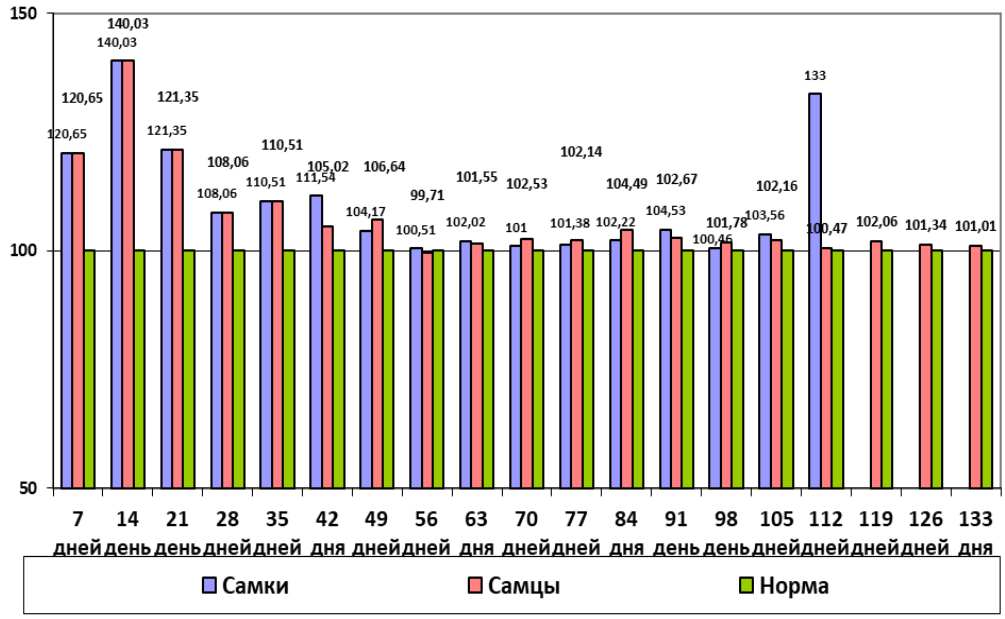


Рисунок 3 – Отклонение фактических значений абсолютной массы тела от нормативных, %.

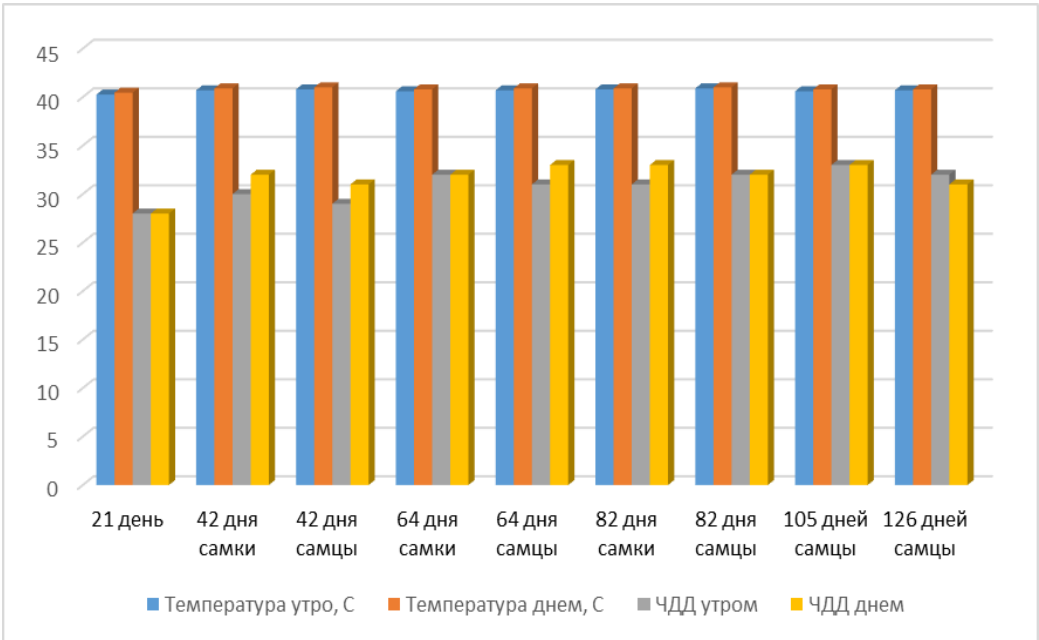


Рисунок 4 – Динамика физиологических показателей индеек по возрастам и полу.

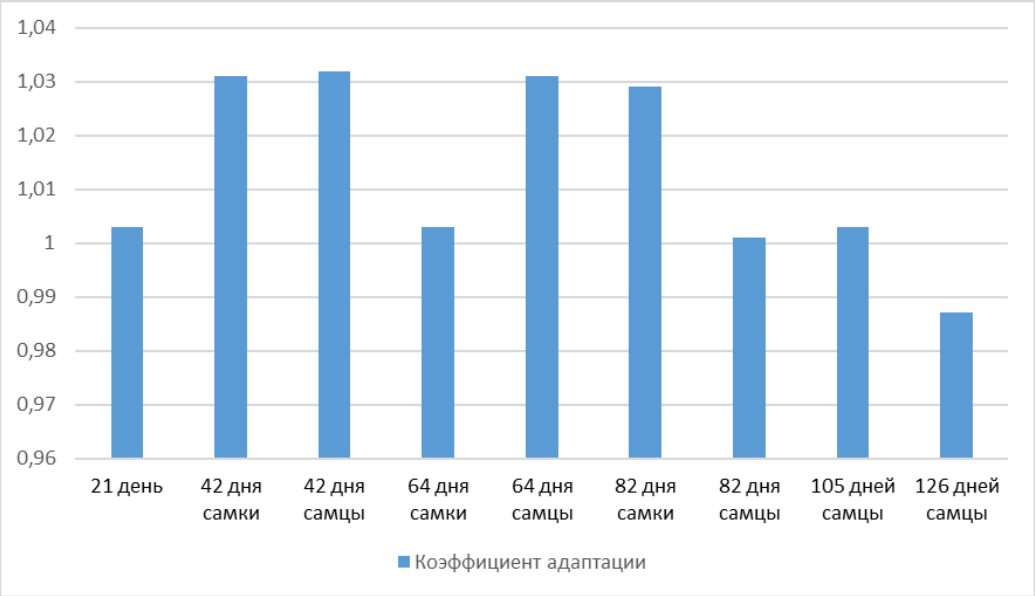


Рисунок 5 – Динамика коэффициента адаптации индеек по возрастам и полу.

ный спад коэффициента адаптации у самцов с возрастом. У самок же наблюдаются разные по динамике значения, что говорит о большей нестабильности процессов в организме.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, анализируя полученные данные можно говорить о том, что у самцов индеек процесс адаптации идет более равномерно и быстро после проявления полового деморфизма, на что указывает равномерный рост абсолютной массы, небольшое отклонение от фактической массы от нормативной и постепенное снижение коэффициента адаптации от 1,032 в возрасте 42 дня до 0,987 в возрасте 126 дней. У самок же адаптационные способности организма более слабые, на что указывает резкие колебания фактической массы от нормативных значений, а также резкое повышение коэффициента адаптации в 42 и 82 дня.

FEATURES OF ADAPTATION OF THE ORGANISM OF TURKEYS IN THE CONDITIONS OF THE POULTRY FACTORY

Kozlova S. V. – PhD. in Biology, assoc. department of non-communicable diseases of farm animals (ORCID 0000-0002-1431-9720), **Veremeeva S. A.** – PhD. n, assoc. department of anatomy and physiology (ORCID 0000-0002-3656-6837), **Krasnolobova E. P.** – PhD. n, assoc. department of anatomy and physiology (ORCID 0000-0002-2260-5639), **Cheremenina N. A.** – PhD. in Biology, assoc. department of anatomy and physiology (ORCID 0000-0001-9509-2013), **Lomdo A.I.** - graduate student.

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Northern Trans-Ural State Agricaltural University

*krasnolobovaep@gausz.ru

ABSRTACT

The work is devoted to the study of adaptive features in the Hybrid Converter novo turkey cross in a poultry farm located in the south of the Tyumen region. The aim of the work was to investigate the adaptive abilities of the body of turkeys in a poultry farm in the Tyumen region. Research work was carried out at the Department of Anatomy and Physiology of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education of the State Agrarian University of the

Northern Trans-Urals and in the conditions of the poultry farm LLC "Absolut-Agro". The object of the study was turkeys of different ages and genders of the Hybrid Converter novo cross. The studies were carried out using generally accepted methods to study the age-related dynamics of absolute mass, body temperature, respiratory rate, and the adaptation coefficient was calculated. Physiological indicators of temperature, respiratory rate were measured in 72 heads of broiler turkeys at the age of 21 days, 42, 64, 82, 105 and 126 ays. Analyzing the obtained data, we can say that in male turkeys, the adaptation process proceeds more evenly and quickly after the manifestation of sexual demorphism, as indicated by a uniform increase in absolute weight, a slight deviation from the actual weight from the normative one and a gradual decrease in the adaptation coefficient from 1.032 at the age of 42 days to 0.987 at the age of 126 days. In females, the adaptive abilities of the body are weaker, as indicated by sharp fluctuations in the actual weight from the normative values, as well as a sharp increase in the adaptation coefficient at 42 and 82 days.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Беленький, Ю.В. Инвентаризация, оценка и анализ современного состояния отечественного генофонда индеек / Ю.В. Беленький, Л.А. Шинкаренко, Н.Г. Щербакова, Я.С. Ройтер // Птица и птицепродукты. – 2017. – № 1. – С. 58–60.
2. Бессарабов, Б. Ф. Воспроизводство сельскохозяйственной птицы. Учебное пособие / Б.Ф. Бессарабов, С.В. Федотов. – М.: ИНФРА-М, 2015. – 368 с.
3. Гоноцкий, В.А. Судьба индейки / В.А. Гоноцкий, Л.П. Федина // Мясная индустрия. – 2018. – № 4. – С. 44-47.
4. Давлеев, А.Д. Ключевые факторы и тенденции российского рынка индейки в 2014-2020 гг / А.Д. Давлеев // Птица и птицепродукты. – 2015. – № 5. – С. 10–14.
5. Задорова Н.Н. Особенности роста сельскохозяйственных животных и птицы / Н.Н. Задорова, Ю.С. Жачева // Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского ин-та овцеводства и козоводства. – Ставрополь. – 2015. – № 8. – С. 98–102.
6. Козлова, С. В. Морфометрические параметры печени бройлеров кросса Arbor / С. В. Козлова // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2019. – № 9. – С. 128-134.
7. Краснолобова, Е. П. Анатомо-гистологическая характеристика почек бройлеров кросса Arboracres+ при воздействии стресс-фактора / Е. П. Краснолобова, С. А. Веремеева, С. В. Козлова // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. – 2021. – № 2(65). – С. 114-118.
8. Краснолобова, Е. П. Анатомо-гистологическая характеристика селезенки бройлеров кросса Arbor Acres+ при воздействии стресс-фактора / Е. П. Краснолобова, С. В. Козлова, С. А. Веремеева, А. А. Бахарев // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2021. – № 2. – С. 42-48.
9. Медведева, Д.В. Влияние условий содержания на продуктивные качества молодняка индеек / Д.В. Медведева // Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны: Материалы междунар. науч. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых, 2016 г. – СПб: Издательство ФГБОУ ВО СПбГАВМ, 2016. – С. 115–116.
10. Носков, С.Н. Сравнительная характеристика индюшат кроссов «БИГ-6» И «Хайбрид Конвертер» / С.Н. Носков // Научно-технический прогресс: актуальные и перспективные направления будущего: Сборник материалов XI Междунар. науч.-практ. конф. – Кемерово: Западно-Сибирский научный центр, 2019. – С. 141 –142.
11. Околелова, Т.М. Птицеводство: актуальные вопросы и ответы: Монография / Т.М. Околелова, С.В. Енгашев, И.А. Егоров. – М.: Издательский Центр РИОР, 2020. – 267 с.
12. Петрухин, О.Н. Хозяйственно-полезные качества и интерьерные особенности индеек различных пород, линий и кроссов: дис. … канд. с.-х. наук: 06.02.10 / О.Н. Петрухин. – Черкесск, 2015. – 26 с.

13. Погодаев, В.А. Адаптационные способности свиней датской селекции на Кубани / В.А. Погодаев, Г.В. Комлацкий // Ветеринарная патология. – 2014. – № 1. – С. 60-66.
14. Ребезов, Я.М. Динамика живой массы индюков разных генотипов / Я.М. Ребезов, О.В. Горелик // Знание молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны: Материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, 22–23 ноября 2018 года. – СПб: Из-во ФГБОУ ВО СПбГАВМ, 2018. – С. 201–202.
15. Ребезов, Я.М. Мясная продуктивность индейки породы Хайбрид / Я.М. Ребезов // Качество продукции, технологий и образования: Материалы XIV Междунар. науч.-практ. конф., 30 апреля 2019 г. – Магнитогорск: Изд-во Магнитогорского гос. техн. ун-та им. Г.И. Носова, 2019. – С. 136–139.
16. Савицкий С.С. Адаптивная роль акустической сигнализации в раннем онтогенезе выводковых птиц С.109-130.
17. Хидиров, К.И. Приспособляемость кроликов к условиям жаркого климата. / К.И Хидиров, Ф.Б. Бахриддинов, Л.У Эркинова // Scientific aspects and trends in the field of scientific research. International scientific online conference. 2023. С. 7-12.
18. Чагина В.А. Роль коэффициента адаптации в процессе диагностики уровня здоровья / В.А. Чагина // Наука, образование и культура. 2017. № 6 (21). С. 71-75.
19. Flock, D.K. Poultry breeding – the next 25 years / D. K. Flock // Poultry Processing. – 2009. – Vol. 25. – № 1. – P. 22–23.
20. Tanako, T. Stereotyped behavior in caget layind hens/ T. Tanako, J.E. Humik // Nihon chikusan gakkaidio. - Anim. Sci and Technol., 1992. – Vol. 3. – № 8. – C 800-804.

REFERENCES

1.Belenky, Yu.V. Inventory, evaluation and analysis of the current state of the domestic turkey gene pool / Yu.V. Belenky, L.A. Shinkarenko, N.G. Shcherbakova, Ya.S. Reuter // Poultry and poultry products. - 2017. - No. 1. -S. 58–60.
2. Bessarabov, B. F. Reproduction of agricultural poultry. Textbook / B.F. Bessarabov, S.V. Fedotov. - M.: INFRA-M, 2015. - 368 p.
3. Gonotsky, V.A. The fate of the turkey / V.A. Gonotsky, L.P. Fedina // Meat industry. - 2018. - No. 4. - P. 44-47.
4. Davleev, A.D. Key factors and trends in the Russian turkey market in 2014-2020 / A.D. Davleev // Poultry and poultry products. - 2015. - No. 5. - P. 10–14.
5. Zadorova N.N. Peculiarities of the growth of agricultural animals and poultry / N.N. Zadorova, Yu.S. Zhacheva // Collection of scientific works of the All-Russian Research Institute of Sheep and Goat Breeding. - Stavropol. - 2015. - No. 8. - P. 98–102.
6. Kozlova, S. V. Morphometric parameters of the liver of Arbor cross broilers / S. V. Kozlova // Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy. - 2019. - No. 9. - P. 128-134.
7. Krasnolobova, E.P. Anatomical and histological characteristics of the kidneys of broilers of the Arboracres+ cross under the influence of a stress factor / E.P. Krasnolobova, S.A. Veremeeva, S.V. Kozlova // Bulletin of the Michurinsk State Agrarian University. - 2021. - No. 2 (65). - S. 114-118.
8. Krasnolobova, E. P. Anatomical and histological characteristics of the spleen of Arbor Acres+ broilers under the influence of a stress factor / E. P. Krasnolobova, S. V. Kozlova, S. A. Veremeeva, A. A. Bakharev // Bulletin of Kursk State Agricultural Academy. – 2021.- No. 2. - S. 42-48.
9. Medvedeva, D.V. Influence of keeping conditions on the productive qualities of young turkeys / D.V. Medvedeva // Knowledge of the young for the development of veterinary medicine and the agro-industrial complex of the country: Materials of the international. scientific conf. students, graduate students and young scientists, 2016 - St. Petersburg: Publishing House of FGBOU VO SPbGAVM, 2016. - P. 115–116.
10. Noskov, S.N. Comparative characteristics of poults of crosses "BIG_6" and "Hybrid Converter" / S.N. Noskov // Scientific and technical progress: current and

promising directions of the future: Collection of materials of the XI Intern. scientific-practical. conf. - Kemerovo: West Siberian Scientific Center, 2019. - P. 141–142.
11. Okolelova, T.M. Poultry farming: topical questions and answers: Monograph / T.M. Okolelova, S.V. Engashev, I.A. Egorov. - M.: Publishing Center RIOR, 2020. - 267 p.
12. Petrukhin, O.N. Economically useful qualities and interior features of turkeys of various breeds, lines and crosses: dis. … cand. s.-x. Sciences: 06.02.10 / O.N. Petrukhin. - Cherkessk, 2015. - 26 p.
13. Pogodaev, V.A. Adaptive abilities of Danish breeding pigs in the Kuban / V.A. Pogodaev, G.V. Komlatsky // Veterinary pathology. - 2014. - No. 1. - P. 60-66.
14. Rebezov, Ya.M. Live weight dynamics of turkeys of different genotypes / Ya.M. Rebezov, O.V. Gorelik // Knowledge of the young for the development of veterinary medicine and agro-industrial complex of the country: Proceedings of the international scientific conference of students, graduate students and young scientists, November 22–23, 2018. - St. Petersburg: From the FGBOU VO SPbGAVM, 2018. - S. 201–202.
15. Rebezov, Ya.M. Meat productivity of the Hybrid turkey / Ya.M.Rebezov // Quality of products, technologies and education: Proceedings of the XIV Intern. scientific-practical. Conf., April 30, 2019 - Magnitogorsk: Publishing House of the Magnitogorsk State University. tech. un-ta im. G.I. Nosova, 2019. - S. 136-139.
16. Savitsky S.S. Adaptive role of acoustic signaling in early ontogeny of brood birds P.109-130.
17. Khidirov, K.I. Adaptability of rabbits to hot climates. / K.I. Khidirov, F.B. Bakhriddinov, L.U. Erkinova // Scientific aspects and trends in the field of scientific research. International scientific online conference. 2023. S. 7-12.
18. Chagina V.A. The role of the adaptation coefficient in the process of diagnosing the level of health / V.A. Chagina // Science, education and culture. 2017. No. 6 (21). pp. 71-75.
19.Flock, D.K. Poultry breeding – the next 25 years / D. K. Flock // Poultry Processing. – 2009. – Vol. 25. – № 1. – P. 22–23.
20.Tanako, T. Stereotyped behavior in caget layind hens/ T. Tanako, J.E. Humik // Nihon chikusan gakkaidio. - Anim. Sci and Technol., 1992. - Vol. 3. № 8. - C 800-804.

УДК: 639.3.091:612.11/.12(476)
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.4.285

ОЦЕНКА БИОХИМИЧЕСКОГО СТАТУСА PARASAIMO MYKISS WALBAUM В УСЛОВИЯХ ФОРЕЛЕВОГО ХОЗЯЙСТВА, КАК ОСНОВА ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ПРИРОДНОГО АДАПТОГЕНА НА ОСНОВЕ ЗЕЛЕНЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

Карпенко Л.Ю.[1] – д-р биол. наук, проф., зав. каф. биохимии и физиологии; **Сидорова Н.А.**[2] – канд. биол. наук, доц., доц. каф. зоологии и экологии; **Полистовская П.А.**[1] – канд. биол. наук, доц. каф. биохимии и физиологии; **Бахта А.А.**[1] – канд. биол. наук, доц., доц. каф. биохимии и физиологии; **Савушкин А.И.**[2] – науч. сотр.; **Бабич О.О.**[3] – д-р техн. наук, доц.; **Сухих С.А.**[3] – д-р техн. наук, доц., зав. лабораторией микробиологии и биотехнологии; **Никонов И.Н.**[3] – канд. биол. наук, ст. науч. сотр.

[1] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
[2] ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет»
[3] ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени И. Канта»

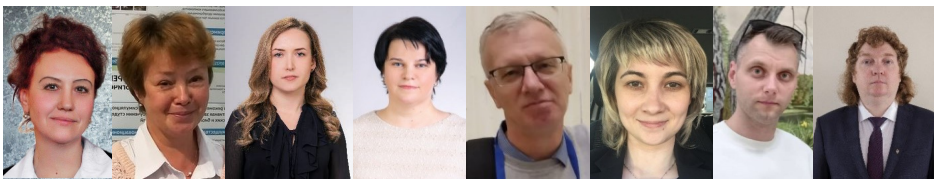
* l.u.karpenko@mail.ru

Ключевые слова: *радужная форель, гематология рыб, зеленые микроводоросли, каротиноиды.*

Keywords*: rainbow trout, fish hematology, green microalgae, carotenoids.*

Благодарность. *Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 322-23 (Соглашение № 23-16-20026), проводимого совместно с Республикой Карелия с финансированием из Фонда венчурных инвестиций Республики Карелия (ФВИ РК).*

Поступила: 16.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Увеличение выпуска продукции аквакультуры является важным условием поддержки продовольственной безопасности России и обеспечения социально-экономического развития регионов. Одним из ключевых факторов устойчивого функционирования форелевых хозяйств является своевременное и эффективное предупреждение возникновения и распространения заболеваний у выращиваемых рыб [8,10]. Целью представленного исследования был мониторинг состояния форели радужной на основе оценки биохимических показателей крови в возрастной динамике для выявления крити-

ческих периодов и разработки адаптогена из зеленых микроводорослей для коррекции обменных процессов. В представленном исследовании проведено изучение биохимического статуса форели радужной в условиях рыбного хозяйства Республики Карелия. Исследование проводилось в летний период на 4-х возрастных группах. В ходе исследований было выявлено, что возраст форели существенно влияет на изучаемые биохимические показатели крови. В результате исследований выявлено, что у изучаемых животных с возрастом наблюдается достоверное увеличение таких биохимических показателей как АлАТ, общий белок, альбумины, мочевина. Таким образом, в ходе проведенного мониторинга биохимического статуса форели радужной в условиях аквакультуры было установлено, что с возрастом ухудшается состояние организма рыб, что отражается на биохимических показателях крови, таких как общий белок, альбумины, мочевина.

Зеленые микроводоросли хлорелла могут в этом случае выступать в качестве природного адаптогена, нормализующего биохимические показатели крови за счет высокого содержания доступных каротиноидов. Установлено, что в биомассе суспензии препарата на основе хлореллы в заметных количествах накапливаются пигменты хлорофилл *a* (6,68 мг/г) и каротиноиды (3,36 %).

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Увеличение выпуска продукции аквакультуры является важным условием поддержки продовольственной безопасности России и обеспечения социально-экономического развития регионов. Особенно перспективно развитие аквакультуры для Северо-Западного региона и Сибири, в связи с благоприятными условиями среды для выращивания ценных пород лососевых рыб. В настоящее время лидирующие позиции по садковому форелеводству занимает Республика Карелия, поставляющая на внутренний рынок более 80% товарной форели, производимой в Российской Федерации. Одним из ключевых факторов устойчивого функционирования форелевых хозяйств является своевременное и эффективное предупреждение возникновения и распространения заболеваний у выращиваемых рыб [8,10].

Известно, что содержание культивируемой форели в условиях скученности и питания искусственными кормами провоцирует снижение иммунитета, быстрое распространение инфекций, подсоединение к первичной инфекции вторичных возбудителей с созданием ассоциированных комплексов, которые усугубляют заболевание и осложняют его клиническую картину. Из-за высокого уровня восприимчивости культивируемых видов гидробионтов к болезням, ухудшения качества воды и широкого спектра стрессовых состояний (от ферментативной недостаточности до инфекций и освоения новых условий обитания), индустрия аквакультуры испытывает постоянное ограничение в развитии, что в разы увеличивает важность разработки новых отечественных лечебно-профилактических препаратов со свойствами адаптогенов. Для решения этой проблемы активно исследуются не только морфометрические, но и физиолого-биохимические характеристики культивируемых рыб, которые на сегодняшний день остаются все еще малоизученными [11,12].

К экологически безопасным и эффективным лечебно-профилактическим способам увеличения иммунного статуса организма рыб и поддержания баланса нормальной микрофлоры как в организме, так и в среде обитания считают применение добавок к комбикормам: пробиотиков, фитобиотиков и пребиотиков. Существующий огромный экспериментальный материал доказывает важное значение пробиотических микроорганизмов и фитобиотиков для жизни всех живых организмов, включая и рыб. Основной эффект от их использования связывают с увеличением показателей роста, нормализацией обменных процессов, резистентностью к неблагоприятным факторам окружающей среды [6,14].

Зеленые микроводоросли, в зависимости от вида, являются доступным источ-

ником белков и липидов. В исследованиях Nakagawa H. (1997), посвященных изучению влияния водорослей на обмен веществ у рыб было отмечено, что включение от 2.5 до 10% водорослей в рацион рыб улучшает показатели роста, эффективность использования корма, кишечную микробиоту, физиологическую активность и товарный вид рыбы [2].

Среди фотосинтезирующих пигментов зеленых микроводорослей преобладают хлорофилл и каротиноидные пигменты. Хлорофилла содержится примерно в 10 раз больше, чем в люцерне, наиболее известном источнике этого пигмента. Каротиноиды относятся к обширному классу природных соединений - изопреноидов, наиболее ценным из которых является b-каротин или провитамин А.

Целью представленного исследования был мониторинг состояния форели радужной на основе оценки биохимических показателей крови в возрастной динамике для выявления критических периодов и разработки адаптогена из зеленых микроводорослей для коррекции обменных процессов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

На первом этапе исследований проведена оценка биохимических показателей крови форели радужной в условиях рыбного хозяйства Республики Карелия. Исследование проводилось в летний период на 4-х возрастных группах (1+,2+,3+,4+), радужной форели (*Parasalmo mykiss* Walbaum, 1792) семейства лососевые – Salmonidae, род лососи – Salmo Linne. Количество в группах – 10 особей. Общее количество в исследование- 40 особей.

Все исследования с рыбой проводили в соответствии с международным этическим стандартом, изложенным в Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в других научных целях, а также согласно требованиям, изложенным в заключении Комитета по этике в области исследований на животных Петрозаводского государственного университета № 274 от 7 мая 2020 года. Для оценки физиологического состояния рыб определяли следующие гематологические показатели сыворотки: аланинаминотрансферазу (АлАТ), аспартатаминотрансферазу (АсАТ), щелочную фосфатазу, общий белок, альбумины, креатинин, мочевину, глюкозу, общий билирубин, общий холестерин по общепринятым методикам [7,9,13-14].

На втором этапе исследований была проведена оценка пигментного состава биомассы микроводоросли *Chlorella* для разработки в дальнейшем на ее основе природного адаптоген*,* для коррекции выявленных изменений в критические возрастные периоды. Для определения пигментов в биомассе микроводоросли *Chlorella* использовали модифицированную спектрофотометрическую методику, разработанную El-Sheekh и Fathy [1]. Для этого 1 г каждого образца высушенной измельченной биомассы суспендировали в 50 мл ацетона и энергично перемешивали магнитной мешалкой C-MAG HS 7 (IKA, Германия). Затем растворы помещали в темноту при 4 ° C и центрифугировали при 4000 об/мин в течение 10 мин. Полученные супернатанты использовали для определения концентрации хлорофилла *a* (Chl *a*), хлорофилла *b* (Chl *b*) и общих каротиноидов (Car). Концентрации Chl *a*, Chl *b* и Car определяли спектрофотометрически при длинах волн 662, 645 и 470 нм, соответственно с использованием двухлучевого спектрофотометра UV-3600 (Shimadzu, Япония).

Статистическая обработка полученных данных включала вычисление среднего арифметического, определение стандартного отклонения, расчет достоверности по Стьюденту.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты биохимического анализа сыворотки крови радужной форели представлены в таблице 1.

В результате исследований выявлено, что у радужной форели наблюдается возрастная динамика для всех изучаемых показателей. Так уровень показателей белкового и азотистого обмена характеризуется следующими изменениями: из-

менение концентрации общего белка носит линейный характер минимальные значения отмечаются у рыбы в возрасте 1 года и составляют 33,17 ±1,1 г/л, максимальные концентрации у рыбы в возрасте 4 лет- 54,9±0,8 г/л, достоверные изменения наблюдаются с 3 летнего возраста-у рыб данной группы уровень общего белка выше значений рыб 1 группы на 25% ($p<0,05$), у рыб 4 группы на 40%; изменение концентрации альбуминов носит линейный характер- минимальные значения отмечаются у форели в возрасте 1 года и составляют 1,9±0,2 ммоль/л, максимальные концентрации у форели в возрасте 4 лет – 3,8±0,4 ммоль/л. Достоверные изменения наблюдаются начиная с 2 летнего возрата – у форели данной группы уровень альбуминов выше значений форели 1 группы на 30%, у форели 3 группы на 40 % ($p<0,05$), у форели 4 группы на 50 % ($p<0,05$); изменение концентрации креатинина носит нелинейный характер минимальные значения отмечаются у форели в возрасте 1 года и составляют 20,26 ±9,3 мкмоль/л, максимальные концентрации у форели в возрасте 3 лет- 62,18±9,3 мкмоль/л. Достоверные изменения наблюдаются начиная с 2 летнего возрата – у форели данной группы уровень креатинина выше значений форели1 группы в 2 раза , у форели 3 группы в 3 раза, у форели 4 группы в 2 раза.

Изменение концентрации мочевины носит линейный характер минимальные значения отмечаются у форели в возрасте 1 года и составляют 1,9±0,2 ммоль/л, максимальные концентрации у форели в возрасте 4 лет- 3,8±0,4 ммоль/л, достоверные изменения наблюдаются с 3 летнего возраста-у форели данной группы уровень мочевины выше значений форели 1 группы на 40 % ($p<0,05$), у форели 4 группы на 50 %($p<0,05$). Увеличение с возрастом содержание в сыворотке крови общего белка может являться следствием увеличения физиологической активности, включая ростовые и метаболические процессы на уровне индивидуального организма. Высокие концентрации мочевины, обнаруженные в сыворотке крови старших возрастных групп форели вероятно обусловлены необходимостью накопления мочевины, как возможной антиоксидантной защиты в стрессовых условиях абиотического и биотического генеза.

При оценке возрастной динамики активности изучаемых ферментов выявлено, что с возрастом наблюдается повышение активности изучаемых показателей. Так уровень АлАТ повысился с минимальных значений, отмечаемых в возрасте 1 года с 1,9 ±0,2 МЕ/л до максимальных значений (3,8±7,6) в возрасте 4 лет, достоверные изменения отмечаются с 2 летнего возраста: у данной группы активность АлАТ выше значений у форели 1 группы на 53 %, у форели 3 группы на 45 %, у форели 4 группы – на 71 %. Уровень АсАТ повысился с минимальных значений, отмечаемых в возрасте 1 года с 234,1±63,4 МЕ/л до максимальных значений (359,3±28,6) в возрасте 4 лет. При оценке уровня ЩФ отмечаются достоверные изменения с 3-летнего возраста: у форели 3 группы активность ЩФ выше значений у форели 1 группы в 1,5 раза, у форели 4 группы в 2,2 раза.

Возрастные изменения характерны для уровня общего билирубина: они носят нелинейный характер: у рыбы в 4-летнем возрасте наблюдается максимальная концентрация, она достоверно выше значений у форели в годовалом возрасте на 30%.

Значительные изменения характерны для уровня общего холестерина: максимальные значения характерны для рыбы в возрасте 4 лет, у данного возраста значение концентрации общего холестерина в 4 раза достоверно выше по сравнению с рыбой в годовалом возрасте. Вероятно, в сыворотке крови самок рыб холестерин является необходимым условием для созревания гонад, а также для подготовки половозрелых самок рыб к фазам размножения и нереста.

При оценке возрастной динамики концентрации глюкозы достоверных изменений в концентрации данного показателя не выявлено.

Таблица 1 – Биохимические показатели сыворотки крови исследуемых групп радужной форели (M±m, n=40)

Показатели	Исследуемые группы форели				
	1+ (n = 10)	2+ (n = 10)	3+ (n = 10)	4+ (n= 10)	Реф.значения /Standard values [Nabi, 2022]
АлАТ, МЕ\л	11,26 ±0,8	24,12±4,5*	20,73±0,3*	39,2±7,6*	8 - 21
АсАТ, МЕ\л	234,1 ±63,4	247,9±73,2	301,4±22,8	359,3±28,6	235 -713
Щелочная фосфатаза, МЕ\л	66,24 ±23,6	42,8±13,6	101,1±34,9*	145,6±26,1*	6 - 205
Глюкоза, ммоль/л	2,12 ±0,1	2,55±0.1	2,30±0,1	2,32±0,2	1,92 - 2,70
Общий белок, г/л	33,17 ±1,1	37,1±1,2	44,0±1,4*	54,9±0,8*	30 -39
Альбумины , г/л	1,06 ±0,1	1,5±0,1	2,20±0,1	1,70±0,2	1,2 – 1,6
Креатинин, мкмоль/л	20,26 ±9,3	42,12±4,6*	62,18±9,3*	42,10±6,2*	22,10 - 66,19
Мочевина, ммоль/л	1,9±0,2	2,7 ±0,1	3,2±0,4*	3,8±0,4*	0,56-2,82
Общий билирубин, мкмоль/л	3,12 ±0,3	2,7±0,3	4,30±0,6	4,48±0,8*	3,39 – 5,78
Общий холестерин, ммоль/л	2,07 ±0,3	4,96±0,5*	6,30±1,2*	8,12±1,4*	2,30 -10,60

*Примечание: * P <0,05 – относительно значений в возрасте 1 года.*

При сравнении полученных результатов с референтными значений для данного вида выявлено, что шесть из изучаемых биохимических показателей: АсАТ, щелочная фосфатаза, глюкоза, общий билирубин, общий холестерин и креатинин выходят за рамки. АлАТ превышала референтные значения в 1.9 раз в возрастной группе 4+. Незначительное превышение в сыворотке крови форели общего белка, альбуминов и мочевины относительно референтных значений отмечено для возрастных групп 3+ и 4+. Среди всех измеренных параметров глюкоза, общий белок, общий холестерин, креатинин значительно варьировали в зависимости от возраста рыбы (P <0,05). Обнаружено, что только три переменные из десяти, протестированные на независимых образцах крови, включая общий белок, общий холестерин и мочевину, оказались значимыми в пределах исследованных возрастных групп (P <0,05). Это означает, что возраст форели существенно влияет на перечисленные биохимические показатели сыворотки крови.

Во втором этапе исследований нами был изучен пигментный состав биомассы микроводоросли Chlorella для разработки в дальнейшем на ее основе природного адаптоген для коррекции метаболизма форели в выявленных возрастных критических периодах.

Данные по пигментному составу биомассы микроводоросли Chlorella представлены в таблице 2.

Согласно таблице 2, в биомассе микроводоросли Chlorella в заметных количествах накапливаются пигменты хлорофилл а (6,68 мг/г) и каротиноиды (3,36 %). Хлорофилл b присутствует в меньших количествах – 1,58 мг/г.

В литературе имеются сведения о накоплении в биомассе микроводоросли Chlorella kessleri хлорофилла а на уровне 32,7 мг/г в миксотрофных условиях культивирования по сравнению с 13,1 мг/г в гетеротрофных условиях [10]. Таким образом, варьирование условий выращивания микроводорослей позволяет регулировать уровень фотосинтетических пигментов в клетках.

Таблица 2 – Содержание пигментов в биомассе микроводоросли *Chlorella*

Наименование пигмента	Содержание пигмента
Хлорофилл *a*, мг/г	6,68±0,10
Хлорофилл *b*, мг/г	1,58±0,03
Каротиноиды, %	3,36±0,12

Сообщалось о содержании хлорофилла а в биомассе Chlorella vulgaris в количестве 0,25–9,6 мг/г сухой массы, хлорофилла b – 0,07–5,8 мг/г [8], β-каротина – 0,007–0,012 мг/г [49], астаксантина – 0,55 мг/г, лютеина – 0,052–3,8 мг/г, виолаксантина – 0,01–0,04 мг/г [8-9].

Необходимо отметить известные свойства b-каротина, проявляющиеся в антиоксидантном эффекте, что связано с защитой клеток и тканей организма от неблагоприятного воздействия свободных радикалов, которые нарушают гомеостаз клеточных структур и снижают сопротивляемость организма болезням.

ВЫВОДЫ / CONCLUSIONS

Таким образом, в ходе проведенного мониторинга возрастной динамики биохимических показателей крови форели радужной в условиях аквакультуры было установлено, что с возрастом ухудшается состояние организма рыб, что отражается на биохимических показателях крови, таких как общий белок, альбумины, мочевина.

Зеленые микроводоросли хлорелла могут в этом случае выступать в качестве природного адаптогена, нормализующего биохимические показатели крови за счет высокого содержания доступных каротиноидов.

ASSESSMENT OF THE BIOCHEMICAL STATUS OF PARASAIMO MYKISS WALBAUM IN TROUT FARMING CONDITIONS AS A BASIS FOR THE DEVELOPMENT OF A NATURAL ADAPTOGEN BASED ON GREEN MICROALGAE

Karpenko L.Yu. – D. Biol. sc., Professor; **Sidorova N.A.** – Cand. of Biol. Sc., Assoc. Professor; **Polistovskaya P.A.** – Cand.biol.sc., Assoc. Professor; **Bakhta A.A.** – Cand.biol.sc., Assoc. Professor; **Savushkin A.I.** – Researcher; **Babich O. O.** – D.Technical sc., Docent; **Sukhikh S.A.** – D. Technical sc., Docent; **Nikonov I.N.** – Cand.biol.sc.,

[1] St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

[2] Petrozavodsk State University

[3] Immanuel Kant Baltic Federal University

* l.u.karpenko@mail.ru

Gratitude. *The research was supported by a grant from the Russian Science Foundation No. 322-23 (Agreement No. 23-16-20026), conducted jointly with the Republic of Karelia with funding from the Venture Capital Investment Fund of the Republic of Karelia (FVI RK).*

ABSTRACT

Increasing the output of aquaculture products is an important condition for supporting food security in Russia and ensuring the socio-economic development of the regions. One of the key factors for the sustainable functioning of trout farms is the timely and effective prevention of the occurrence and spread of diseases in farmed fish [8,10]. The purpose of the presented study was to monitor the condition of rainbow trout based on the assessment of biochemical and morphological blood parameters in age dynamics to identify critical periods and develop an adaptogen from green microalgae for the correction of metabolic processes. In the presented study, the hematological status of rainbow trout was studied in the conditions of the fisheries of the Republic of Karelia. The study was conducted in the summer in 4 age groups. During the research, it was revealed that the age of trout significantly affects the biochemical blood levels studied. As a result of the research, it was revealed that in the studied animals with age there is a significant increase in such biochemical parameters as ALT, Total protein, albumin,

and urea. Thus, during the monitoring of the biochemical status of rainbow trout under aquaculture conditions, it was found that the condition of the fish's body worsens with age, which is reflected in the biochemical parameters of the blood, such as total protein, albumin, and urea. In this case, green microalgae Chlorella can act as a natural adaptogen that normalizes blood biochemical parameters due to the high content of available carotenoids. It has been established that the pigments chlorophyll a (6.68 mg/g) and carotenoids (3.36%) accumulate in noticeable quantities in the biomass of.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.El-Sheekh, M.M. Variation of some nutritional constituents and fatty acid profiles of Chlorella vulgaris Beijerinck grown under auto and heterotrophic conditions / M.M. El-Sheekh, A.A. Fathy // International Journal of Botany. – 2009. – V. 5. – № 2. – P. 153–159.

2.Nakagawa H. Effect of dietary algae on improvement of lipid metabolism in fish // Biomed. Pharmacother. -1997. - № 51. - P. 345-348.

3.Optimization of pressurized liquid extraction of carotenoids and chlorophylls from Chlorella vulgaris / K.H. Cha, H.J. Lee, S.Y. Koo, et al. // J. Agric. Food Chem. – 2010. – V. 58, 2. – P. 793–797.

4.Optimization of seawater-based triacylglycerol accumulation in a freshwater green alga, Chlorella kessleri, through simultaneous imposition of lowered-temperature and enhanced-light intensity / T. Hayashi, R. Otaki, K. Hirai, et al. // Algal Research. – 2017. – V. 28. – P. 100–107.

5.Singh, J. Commercialization potential of microalgae for biofuels production / J. Singh, S. Gu // Renewable and Sustainable Energy Reviews. – 2010. – V. 14, 9. – P. 2596–2610.

6.Богданов Н. И. Суспензия хлореллы в рационе сельскохозяйственных животных. Пенза: НИЦ ПГУ. - 2006. 54 с. eU-BRARY IO 28340038.

7.Зубрихина Г. Н., Блиндарь В. Н., Тимофеев Ю. С. Теория и практика лабораторных гематологических исследований: учебник. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. - 288 с.

8.Мамонтов, И. Ю. Российское форелеводство и перспектива развития / И. Ю. Мамонтов // Наука без границ. – 2021. – №1 (53). – С. 55-59.

9.Меньшиков, В. В. Клинический диагноз — лабораторные основы. / В.В. Меньшиков – М.: Изд-во "Лабинформ", 1997. – 320 с.

10.Полистовская, П. А. Влияние цинка на гематологические показатели карпа / П. А. Полистовская, Л. Ю. Карпенко, А. И. Енукашвили [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2019. – Т. 240. – № 4. – С. 151-154.

11.Померанцев, Д. А. Актуальные вопросы состояния аквакультуры в Ленинградской области / Д. А. Померанцев, Н. А. Семененко // Роль и место инноваций в сфере агропромышленного комплекса : материалы Всероссийской (национальной) научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора А.А. Сысоева, Курск, 20 ноября 2019 года. – Курск: Курская государственная сельскохозяйственная академия им. профессора И.И. Иванова, 2020. – С. 146-149.

12.Пронина, Г. Ю. Сравнительная оценка двухлетков карпа (Cyprinus carpio L.) разного происхождения по морфологическим, гематологическим и иммунологическим показателям / Г. Ю. Пронина // Известия ОГАУ. 2010. №27-1. – С. 247-251.

13.Руководство по современным биохимическим методам исследования водных экосистем, перспективных для промысла и марикультуры. - М.: Изд-во ВНИРО, 2004. -123 с.

14.Шеховцева Н. В. Экология водных микроорганизмов: методические указания. - Ярославль: Яросл. гос. ун-т им. П. Г. Демидова, 2011. - 84 с.

REFERENCES

1. El-Sheekh, M.M. Variation of some nutritional constituents and fatty acid profiles of Chlorella vulgaris Beijerinck grown under auto and heterotrophic conditions / M.M. El-

Sheekh, A.A. Fathy // International Journal of Botany. – 2009. – V. 5. – No. 2. – R. 153 –159.
2. Nakagawa H. Effect of dietary algae on improvement of lipid metabolism in fish // Biomed. Pharmacother. -1997. - No. 51. - R. 345-348.
3. Optimization of pressurized liquid extraction of carotenoids and chlorophylls from Chlorella vulgaris / K.H. Cha, H.J. Lee, S.Y. Koo, et al. // J. Agric. Food Chem. – 2010. – V. 58, 2. – R. 793–797.
4. Optimization of seawater-based triacylglycerol accumulation in a freshwater green alga, Chlorella kessleri, through simultaneous imposition of lowered-temperature and enhanced-light intensity / T. Hayashi, R. Otaki, K. Hirai, et al. //Algal Research. – 2017. – V. 28. – R. 100–107.
5. Singh, J. Commercialization potential of microalgae for biofuels production / J. Singh, S. Gu // Renewable and Sustainable Energy Reviews. – 2010. – V. 14, 9. – R. 2596–2610.
6. Bogdanov N.I. Suspension of chlorella in the diet of farm animals. Penza: Research Center PSU. - 2006. 54 p. eUBRARY IO 28340038.
7. Zubrikhina G.N., Blindar V.N., Timofeev Yu.S. Theory and practice of laboratory hematological studies: textbook. M.: GEOTAR -Media, 2020. - 288 p.
8. Mamontov, I. Yu. Russian trout farming and development prospects / I. Yu. Mamontov // Science without borders. – 2021. – No. 1 (53). – pp. 55-59.
9. Menshikov, V.V. Clinical diagnosis - laboratory fundamentals. / V.V. Menshikov – M.: Labinform Publishing House, 1997. – 320 p.
10. Polistovskaya, P. A. The influence of zinc on the hematological parameters of carp / P. A. Polistovskaya, L. Yu. Karpenko, A. I. Enukashvili [et al.] // Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after. N.E. Bauman. – 2019. – T. 240. – No. 4. – P. 151-154.
11. Pomerantsev, D. A. Current issues of the state of aquaculture in the Leningrad region / D. A. Pomerantsev, N. A. Semenenko // The role and place of innovation in the agricultural sector: materials of the All-Russian (national) scientific and practical conference dedicated to 100 -anniversary of the birth of Professor A.A. Sysoeva, Kursk, November 20, 2019. – Kursk: Kursk State Agricultural Academy named after. Professor I.I. Ivanova, 2020. – pp. 146-149.
12. Pronina, G. Yu. Comparative assessment of two-year-old carp (Cyprinus carpio L.) of different origins according to morphological, hematological and immunological parameters / G. Yu. Pronina // Izvestia OGAU. 2010. No. 27-1. – pp. 247-251.
13. Guide to modern biochemical methods for studying aquatic ecosystems that are promising for fishing and mariculture. - M.: Publishing house VNIRO, 2004. -123 p.
14. Shekhovtseva N.V. Ecology of aquatic microorganisms: guidelines. - Yaroslavl: Yarosl. state University named after P. G. Demidova, 2011. - 84 p.

УДК: 636.8.084.421
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.293

АНАЛИЗ ПРИМЕНЕНИЯ ГОТОВЫХ РАЦИОНОВ EXPERT HEPATIC ДЛЯ ВЗРОСЛЫХ КОШЕК ЗАБОТА О ПЕЧЕНИ КОМПАНИИ МИРАТОРГ

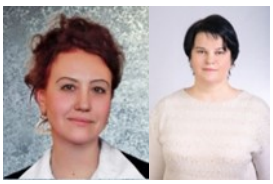
Карпенко Л.Ю. – д-р биол. наук, проф., зав. каф. биохимии и физиологии; **Бахта А.А.** – канд. биол. наук, доц., доц. каф. биохимии и физиологии;

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* l.u.karpenko@mail.ru

Ключевые слова: *кошки, патологии печени, диетические рационы*
Key words: *cats, liver pathologies, dietary rations*

Поступила: 16.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Данная работа посвящена изучению влияние готовых рационов Expert Hepatic для взрослых кошек забота о печени компании МИРАТОРГ на кошек в комплексной терапии гепатопатий. Важной составляющей в комплексном лечении кошек с заболеваниями печени является применение диетических полноценных рационов. Целью данных диет является восполнение энергии и питательных веществ для поддержания потребностей организма и обеспечения регенерации гепатоцитов, для поддержания функции печени. Это может достигаться, если диета является легко усвояемой и обладает высокими вкусовыми качествами, имеет высокую энергетическую плотность и измененное содержание протеина. В ходе проведенных исследований были изучены биохимические показатели крови, отражающие состояние печени у кошек, которым в комплексной терапии гепатопатий применялись готовые рационы Expert Hepatic для взрослых кошек забота о печени компании МИРАТОРГ. Исследование проведено на базе Многофункционального ветеринарного центра «СПбГУВМ» в период с февраля 2022 по октябрь 2023 года. Исследование проводили на кошках разных пород 6-9 летнего возраста. В ходе исследования выявлено, что на начало эксперимента у всех подопытных животных были увеличены показатели, характеризующие состояние печени. При этом активность ферментов-маркеров цитолиза АлАТ и АсАТ были выше верхней границы референтных значений для данного вида животных в среднем в 1,5 раза. Менее выражено увеличение активности наблюдалось у щелочной фосфатазы – основного маркера холестаза. Этим изменениям соответствовало умеренное увеличения содержания общего билирубина. К концу эксперимента наблюдалось достоверное снижение всех исследуемых показателей. Уровень билирубина и щелочной фосфатазы был на верхней границе референтных значений для данного вида животных. Активность же аминотрансфераз достоверно снизилась, но все еще оставалась выше нормы.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Важной составляющей в комплексном лечении кошек с заболеваниями печени является применение диетических полноценных рационов [2]. Целью данных диет является восполнение энергии и питательных веществ для поддержания потребностей организма и обеспечения регенерации гепатоцитов, для поддержания функции печени [6,7]. Это может достигаться, если диета является легко усвояемой и обладает высокими вкусовыми качествами, имеет высокую энергетическую плотность и измененное содержание протеина. Также фосфолипиды, необходимые для восстановления клеточных мембран и повышенное содержание водорастворимых витаминов, цинка и включение пищевой клетчатки [1,3,4].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводились на базе Многофункционального ветеринарного центра СПбГУВМ» в период с февраля 2022 по октябрь 2023 года. В опыте участвовали кошки разных пород, возрастной интервал 6-9 лет. Всего 9 животных.

Диагноз ставился комплексно. С учетом данных анамнеза у всех животных на момент поступления в клинику наблюдалась ежедневная рвота. Периодически снижение аппетита или полный отказ от корма. Шерсть была тусклая. При осмотре выявляли перхоть. Наблюдался неприятный запах из ротовой полости. Все данные анамнеза заносились ветеринарными врачами в специально разработанные для эксперимента анкеты.

Кровь для биохимического анализа брали до начала эксперимента и через 1,5 месяца (6 недель).

Активность щелочной фосфатазы (ЩФ) в сыворотке крови определяли фотометрическим методом, основанным на гидролизе nнитрофенилфосфата динатриевой соли, с использованием промышленных наборов фирмы «Мицар» (В. В. Меньшиков, 1994). Активность аминотрансфераз – аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) в сыворотке крови определяли методом Райтмана и Френкеля с применением промышленных наборов НПФ «Абрис (Н. У. Тиц, 1997), определение содержания билирубина в сыворотке крови методом Йендрашика-Грофа с использованием набора реактивов Клини Тест-Бил фирмы «Мицар».

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Анализ литературных данных показал, что многие животные с тяжелым заболеванием печени страдают анорексией и могут не переносить новой диеты [5]. Поэтому основным вопросом являются вкусовые качества диеты и способы, которые могут улучшить приемлемость диеты, включают постепенное введение и применение смешенного кормления сухим и влажным кормом. Такая практика позволила нам сделать рацион более привлекательным.

Результаты биохимического исследования крови подопытных животных представлены в таблице.

Из данных таблицы видно, что на начало эксперимента у всех подопытных животных были увеличены показатели, характеризующие состояние печени. При этом активность ферментов-маркеров цитолиза АЛТ и АСТ выше верхней границы референтных значений для данного вида животных в среднем в 1,5 раза. Менее выражено увеличение активности щелочной фосфатаза – маркера холестаза. Этим изменениям соответствует умеренное увеличения содержания общего билирубина.

К концу эксперимента мы наблюдали достоверное снижение всех исследуемых показателей. Уровень билирубина и щелочной фосфатазы был на верхней границе референтных значений для данного вида животных. Активность же аминотрансфераз достоверно снизилась, но все еще оставалась выше нормы.

Благодаря тому, что данная диета содержит легкоусвояемые питательные вещества, низкий уровень протеина, это предотвращает накопление продуктов метаболизма аммиака в сыворотке крови, снижаем нагрузку на печень по обезвреживанию токсических веществ, образую-

щихся в результате метаболизма белков и синтеза мочевины. Высокое содержание витамина Е способствует снижению процессов перекисного окисления липидов клеточных мембран гепатоцитов, а включенные в состав Омега 3 (ω-3 ПНЖК) и Омега 6 (ω-6 ПНЖК) полиненасыщенных жирных кислот улучшается формировании фосфолипидов клеточных мембран и синтез эйкозаноидов (биологически активных веществ — тканевых гормонов): простациклинов (ПЦ), простагландинов (ПГ), лейкотриенов (ЛТ) и тромбоксанов (ТК). Гиполипидемическое действие ω-3 ПНЖК заключается в подавлении синтеза липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) и липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), в улучшении их клиренса и увеличении экскреции желчи. Этим свойством ω-3 ПНЖК можно объяснить снижение уровня холестатических процессов, проявляющееся в снижение содержания билирубина и активности щелочной фосфатазы. Также эйкозаноиды, синтезируемые из ω-3 ПНЖК, обладают противовоспалительными свойствами.

Введение в рацион таурина, на наш взгляд, также способствовало восстановлению функций печени. Из многочисленных функций таурина хотелось бы выделить его участие поддерживает пищеварение помогая расщеплению и последующему перевариванию жиров из пищи. Видовой особенностью кошек является невозможность использования глицина для образования парных соединений с желчными кислотами, участвующими в процессе эмульгирования кормовых жиров, переваривания и всасывания жира, трансмембранного транспорта жирных кислот, образования холеиновых комплексов. Эти свойства таурина также способствовали лучшему усвоению жирорастворимых витаминов корма, в частности витаминов А и Е, способствующих восстановлению клеточных мембран гепатоцитов и влияют на качество шерсти.

Таблица 1 – Влияние готовых рационов Expert Hepatic для взрослых кошек забота о печени компании МИРАТОРГ на биохимические показатели крови (M± m, n=9)

Показатель	Единицы измерения	Норма	До	Через 1.5 месяца
АЛТ	Е/л	13-55	96,67± 6,16	62, 31± 2,18 *
АСТ	Е/л	20-55	80,83± 4,76	60,12± 4,21*
ЩФ	Е/л	10-35	37,87± 1,12	27,56 ±1,93*
Билирубин	Мкмоль/л	0-17	22,19± 0,98	16, 23± 1,15*

*Примечание: * - достоверно по сравнению с началом эксперимента, Р ≤0,05*

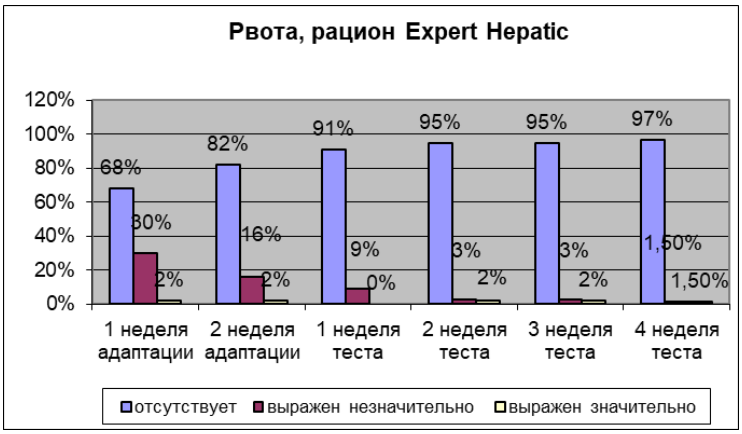


Рисунок 1 – Влияние готовых рационов Expert Hepatic для взрослых кошек забота о печени компании МИРАТОРГ на частоту рвоты у кошек.

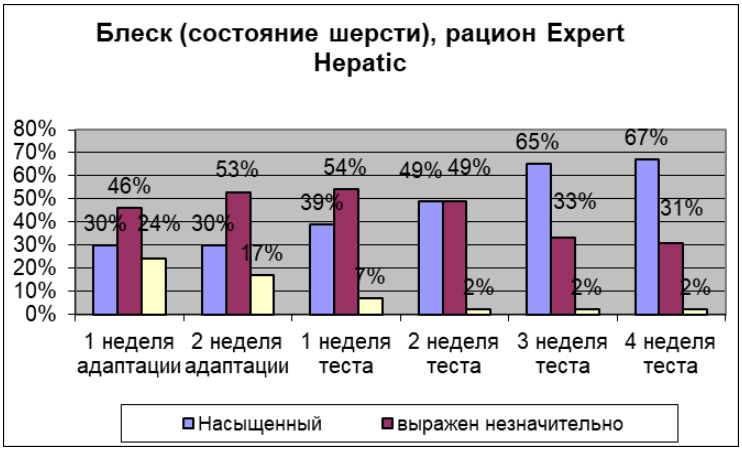


Рисунок 2 – Влияние готовых рационов Expert Hepatic для взрослых кошек забота о печени компании МИРАТОРГ на состояние шерсти.

На рисунке 1 отражена динамика изменения такого показателя, как наличие рвоты, являющего очень частым, а иногда и единственным клиническим симптомом гепатопатий. Анализ анкетных данных показал, что на начало опыта 30% кошек имели в анамнезе рвоту более 3-х раз в сутки. Уже к концу периода адаптации этот показатель снизился до 16%, а через 1,5 месяца к концу эксперимента всего у 3% кошек была периодическая рвота. У 97% животных, участвующих в эксперименте рвота не наблюдалась. Причин рвоты при гепатопатиях много. Так утренняя рвота может быть вызвана застоем желчи. Очень часто снижение активности пищеварительных ферментов, приводящее к нарушению расщепления кормового белка, усиление гнилостных процессов в кишечнике, образование большого количества токсических метаболитов, увеличенная нагрузка на печень приводит к развитию интоксикации и рвоты. Поэтому становится объяснимым, что восстановление клеточных мембран, снижение токсической нагрузки на печень привело к снижение рвоты у кошек.

На состояние шерсти могут влиять многие факторы. Но один из ключевых факторов – это питание. Недостаток определенных питательных веществ, таких как белки, жиры, витамины и минералы, может привести к проблемам с шерстью. Например, недостаток белков делает шерсть тусклой и ломкой, а дефицит жиров вызывает шелушение и перхоть. Некачественные ингредиенты в составе корма также могут негативно сказаться на состоянии шерсти.

Учитывая, что большинство животных, участвовавших в тесте, обладало тусклой шерстью, состояние шерстного покрова у кошек, питающихся рационом Expert Hepatic для взрослых кошек забота о печени компании МИРАТОРГ значительно улучшилось. Отмечали тенденцию увеличения количества кошек с насыщенным блеском шерсти (диаграмма 2). В целом, численность животных с блестящей шерстью увеличилась на 13%, при этом у 10% отмечали насыщенный блеск. У 17 % кошек шерсть приобрела насыщенный цвет. У половины кошек незначительные улучшения шерстного покрова начинали проявляться уже на 1-й неделе полнорационного кормления, но у большинства животных видимые результаты прослеживались на 2-3 неделе кормления и отчетливо проявлялись к концу периода исследований.

ВЫВОДЫ / CONCLUSIONS

1. Более привлекательным было кормление кошек смешанным рационом (сухим и влажным)

2. При переводе кошек на кормление готовых рационов Expert Hepatic для взрослых кошек забота о печени компании МИРАТОРГ период адаптации составил 7-10 дней, что является физиологически обоснованным

3. Через 1,5 месяца у подопытных

животных исчезает рвота, нормализуются биохимические показатели, снижается активность аминотрансфераз, билирубина и щелочной фосфатазы.

4. К концу исследуемого периода у кошек заметно улучшается качество шерсти, появляется блеск.

ANALYSIS OF THE APPLICATION OF READY-MADE EXPERT HEPATIC RATIONS FOR ADULT CATS LIVER CARE OF THE MIRATORG COMPANY

Karpenko L.Yu. – D. Biol. sc., Professor; **Bakhta A.A.** – Cand.biol.sc., Assoc. Professor.

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* l.u.karpenko@mail.ru

ASTRACT

This work is devoted to studying the effect of Expert Hepatic ready-made diets for adult cats liver care company MIRATORG on cats in the complex therapy of hepatopathy. An important component in the complex treatment of cats with liver diseases is the use of complete diets. The purpose of these diets is to replenish energy and nutrients to maintain the body's needs and ensure the regeneration of hepatocytes to maintain liver function. This can be achieved if the diet is easily digestible and has high palatability, high energy density and modified protein content. In the course of the studies, biochemical blood parameters were studied, reflecting the condition of the liver in cats, which used ready-made Expert Hepatic diets for adult cats' liver care from the MIRATORG company in the complex treatment of hepatopathy. The study was conducted on the basis of the Multifunctional Veterinary Center "SPbGUVM" in the period from February 2022 to October 2023. The study was carried out on cats of different breeds aged 6 -9 years. The study revealed that at the beginning of the experiment, all experimental animals had increased indicators characterizing the condition of the liver. At the same time, the activity of the cytolysis marker enzymes AlAT and AST was higher than the upper limit of the reference values for this animal species by an average of 1.5 times. A less pronounced increase in activity was observed in alkaline phosphatase, the main marker of cholestasis. These changes corresponded to a moderate increase in the content of total bilirubin. By the end of the experiment, a significant decrease in all studied parameters was observed. The level of bilirubin and alkaline phosphatase was at the upper limit of the reference values for this animal species. The activity of aminotransferases significantly decreased, but still remained above normal.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Биохимия печени и лабораторная оценка ее физиолого-биохимического состояния: учебно-методическое пособие / О. С. Белоновская, А. А. Лисицына, Л. Ю. Карпенко, А. А. Бахта. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2014. – 116 с. – EDN VNEEQL.

2.Возможности фармакологической коррекции патологий гепатобилиарной системы / Э. М. Мусаева, Г. А. Гусейнова, Ш. М. Полухова [и др.] // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2018. – № 2(62). – С. 221-225. – EDN RTZKHB.

3.Карпенко, Л. Ю. Корреляционная оценка показателей общего клинического анализа крови собак крупных пород / Л. Ю. Карпенко, А. И. Козицына, А. А. Бахта // Аграрная наука в обеспечении продовольственной безопасности и развитии сельских территорий : сборник материалов Международной научно-практической конференции, Луганск, 25 января – 08 2021 года. – Луганск: Луганский государственный аграрный университет, 2021. – С. 227-228. – EDN KIZAOA.

4.Карпенко, Л. Ю. Характеристика антиоксидантной системы мелких домашних животных: учебно-методическое пособие / Л. Ю. Карпенко, А. А. Бахта. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2005. – 39 с. – EDN TPQLBH.

5.Попова, Р. А. Развитие гепатопатий у кошек на территории города Перми / Р. А.

Попова, Г. Г. Егорова // Актуальные проблемы аграрной науки в XXI веке : Материалы Всероссийской заочной научно-практической конференции, Пермь, 10–15 мая 2014 года / Министерство сельского хозяйства Российской Федерации, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пермская государственная сельскохозяйственная академия имени академика Д.Н. Прянишникова»; Научный редактор Ю.Н. Зубарев. Том Часть 1. – Пермь: ИПЦ Прокростъ, 2014. – С. 116-118. – EDN TBKGJT.

6.Частота встречаемости электролитных нарушений у собак мелких пород в условиях города Санкт -Петербург / Л. Ю. Карпенко, А. И. Козицына, А. А. Бахта, П. А. Полистовская // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2022. – № 2. – С. 115-118. – DOI 10.52419/issn2782-6252.2022.2.115. – EDN GMRTKF.

7.Экспертная система диагностики гепатопатий у животных с использованием данных о состоянии крови / В. А. Гринь, К. А. Семененко, В. А. Соболев, Н. Д. Кузьминов // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2019. – Т. 8, № 3. – С. 169-173. – DOI 10.34617/s85x-3h90. – EDN POOTJC.

REFERENCES

1. Biochemistry of the liver and laboratory assessment of its physiological and biochemical state: educational manual / O. S. Belonovskaya, A. A. Lisitsyna, L. Yu. Karpenko, A. A. Bakhta. – St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2014. – 116 p. – EDN VNEEQL.

2. Karpenko, L. Yu. Characteristics of the antioxidant system of small domestic animals: educational manual / L. Yu. Karpenko, A. A. Bakhta. – St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2005. – 39 p. – EDN TPQLBH.

3. Karpenko, L. Yu. Correlation assessment of indicators of general clinical blood analysis of large breed dogs / L. Yu. Karpenko, A. I. Kozitsyna, A. A. Bakhta // Agrarian science in ensuring food security and development of rural areas: collection materials of the International Scientific and Practical Conference,

4. Lugansk, January 25 – 08, 2021. – Lugansk: Lugansk State Agrarian University, 2021. – P. 227-228. – EDN KIZAOA.

5. Frequency of occurrence of electrolyte disturbances in small breed dogs in the city of St. Petersburg / L. Yu. Karpenko, A. I. Kozitsyna, A. A. Bakhta, P. A. Polistovskaya // Legal regulation in veterinary medicine. – 2022. – No. 2. – P. 115-118. – DOI 10.52419/issn2782-6252.2022.2.115. – EDN GMRTKF.

6. Expert system for diagnosing hepatopathy in animals using data on the state of the blood / V. A. Grin, K. A. Semenenko, V. A. Sobolev, N. D. Kuzminov // Collection of scientific papers of the Krasnodar Scientific Center for Animal Science and Veterinary Medicine . – 2019. – T. 8, No. 3. – P. 169-173. – DOI 10.34617/s85x-3h90. – EDN POOTJC.

7.Possibilities of pharmacological correction of pathologies of the hepatobiliary system / E. M. Musaeva, G. A. Guseinova, Sh. M. Polukhova [etc.] // Bulletin of the Russian Military Medical Academy. – 2018. – No. 2 (62). – pp. 221-225. – EDN RTZKHB.

8.Popova, R. A. Development of hepatopathy in cats in the city of Perm / R. A. Popova, G. G. Egorova // Current problems of agricultural science in the 21st century: Materials of the All-Russian correspondence scientific and practical conference, Perm, 10– May 15, 2014 / Ministry of Agriculture of the Russian Federation, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education “Perm State Agricultural Academy named after Academician D.N. Pryanishnikov"; Scientific editor Yu.N. Zubarev. Volume Part 1. – Perm: IPC Prokrost, 2014. – P. 116-118. – EDN TBKGJT.

УДК: 612.766:616.7/.8-053.9:636.7
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.299

ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НА ПРОЯВЛЕНИЕ ВОЗРАСТНЫХ ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ НЕРВНО-МЫШЕЧНОГО АППАРАТА У СОБАК

Александрова Е.Ю. – асп. каф. патологической физиологии (ORCID 0009-0002-5469-2105); **Крячко О.В.** – д-р ветеринар. наук, проф., зав. каф. патологической физиологии (ORCID 0000-0002-8996-8522).

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

*ek.ilicheva.98@gmail.com

Ключевые слова*: собаки, реабилитация, кинезиотерапия, дистрофия, дегенерация, нервно-мышечный аппарат, ЭНМГ*

Keywords: *dogs, rehabilitation, rehabilitation in dogs, kinesiotherapy, dystrophy, degeneration, neuromuscular system, ENMG.*

Поступила: 06.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Дегенеративные изменения нервно-мышечных структур являются необратимым процессом в патогенезе возрастных изменений. К ним относится снижение доли мышечной ткани, замещение нервных структур соединительнотканными элементами, развитие синоптической депрессии и снижение вследствие этого возбудимости и лабильности нервно-мышечного аппарата. Важным аспектом поддержания качества жизни собак старше 9 лет является профилактика и отсрочка необратимых дегенеративных процессов. Для этого в гуманной медицине широко распространено внедрение физической активности в протоколы профилактики и реабилитации после травм. Однако для животных нет убедительной доказательной базы эффективности физической активности в отношении предотвращения возрастных дегенеративных изменений. В ходе работы было изучено влияние физической активности на проявление дегенеративных изменений у животных в возрасте от 9 до 11 лет с помощью электрофизиологического метода исследования - электронейромиографии (ЭНМГ). Данная методика помогает оценить функциональное состояние нервно-мышечных структур с помощью графического изображения (кривой М-ответа). Полученные результаты показывают, что состояние исследуемых структур у опытной группы животных по полученным электрофизиологическим данным оцениваются как более функционально сохранные, по сравнению с животными контрольной группы. Это объясняется тем, что кинезиотерапия положительно влияет на процессы метаболизма, протекающие на клеточном и тканевом уровнях, тем самым улучшая микроциркуляцию и иннервацию нервно-мышечных структур, а также оказывает общеукрепляющее действие на весь организм животного. Полученные результаты неоспоримо свидетельствуют о благоприятном влиянии физических нагрузок на состояние нервно-мышечного аппарата животных.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Кинезиотерапия — это один из методов реабилитации животных в ветеринарной практике. Она включает в себя комплекс упражнений, выполняемых по специальным методикам для достижения желаемого результата: снятие болевого синдрома, повышение активности животного, снятие контрактур суставов, нормализация кровоснабжения и иннервации, такие методы применяются в том числе при травмах опорно-двигательного аппарата [1]. Дистрофические изменения тканей являются необратимыми процессами, связанными с утратой ткани своей функциональной значимости [2]. При развитии дистрофических и дегенеративных изменений в нервно-мышечном аппарате крупных собак снижается их подвижность, появляются хронические заболевания опорно-двигательного аппарата, что ведет к развитию болевого синдрома и в целом ухудшению качества жизни животного [3]. Вследствие этого, профилактика дистрофических изменений нервно-мышечного аппарата у собак крупных пород представляет особый интерес.

Целью исследования было определить профилактическое влияние физической активности на проявление дегенеративных изменений нервно-мышечного аппарата у собак в возрасте 9-11 лет.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В качестве объекта исследования были использованы 20 собак, которые были разделены на две группы по 10 голов в каждой. Масса животных в обеих группах была в диапазоне от 30 до 50 кг, питание собак осуществлялось промышленными рационами премиум и супер-премиум качества, домашнего содержания с ежедневным двукратным выгулом.

Животные в опытной группе тренировались по плану индивидуально подготовленных физических упражнений под руководством врача-реабилитолога в лечебно-профилактических целях, для поддержания имеющегося уровня физической подготовки и снижения дистрофических возрастных изменений. План тренировок у каждой собаки отвечал принципам постепенного возрастания нагрузок, постоянства и регулярности тренировок. В него входили комплексы упражнений, направленные на аэробную нагрузку, силовые занятия и упражнения на растяжку.

Животные в контрольной группе никаким дополнительным воздействиям не подвергались. Все животные на момент исследования являлись клинически здоровыми.

Для контроля качества проведенных мероприятий использовалось электронейромиографическое исследование (ЭНМГ). Поверхностная, стимуляционная, чрезкожная ЭНМГ путем наложения электродов на кожу регистрирует суммированные колебания потенциалов всех двигательных единиц (ДЕ), находящихся в области отведения. Измерение проводилось в области наибольшего интереса, которой соответствовали n. tibialis и n. peroneus по стандартной методике [4]. Супрамаксимальная величина импульса у животных варьировала от 15 до 30 мА. Оценка электрофизиологических критериев проводилась по следующим показателям: амплитуда и форма М-ответа, наличие блоков проведения импульса. Полученные цифровые результаты подверглись статистической обработке с помощью пакета прикладных программ Microsoft Office, достоверность различий определяли с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Дистрофические изменения нервно мышечного аппарата включают в себя атрофии мышечной ткани и нарушение деполяризации мембран нервных волокон, вследствие чего нарушается процесс передачи импульса [5]. Графическим отображением этого процесса является ЭНМГ. Возбудимость характеризует способность ткани в ответ на воздействие раздражителя переходить из состояния покоя в состояние возбуждения. Изменение этого ответа в мышечной и нервной ткани будет свидетельствовать о нарушении их функционального состояния [7].

Блок проведения импульса характери-

зуется снижением амплитуды М-ответа в проксимальных отделах конечности по сравнению с дистальными (рисунок 1). Блок проведения импульса в зависимости от степени проявления подразделяют на 2 категории. При блоке проведения 1 степени отмечается снижение амплитуды М-ответа в диапазоне от 25 до 49% в проксимальных отделах конечности, 2 степени – на 50% и более [6].

В контрольной группе животных блок проведения импульса отмечен у 8 животных из 10, причем у 3 животных из 10 наблюдался блок проведения 1 степени, у 5 животных из 10 блок проведения 2 степени. В опытной группе собак блок проведения был определен всего у 2 животных, из них у 1 животного из группы наблюдался блок проведения 1 степени и у 1 животного - блок проведения 2 степени.

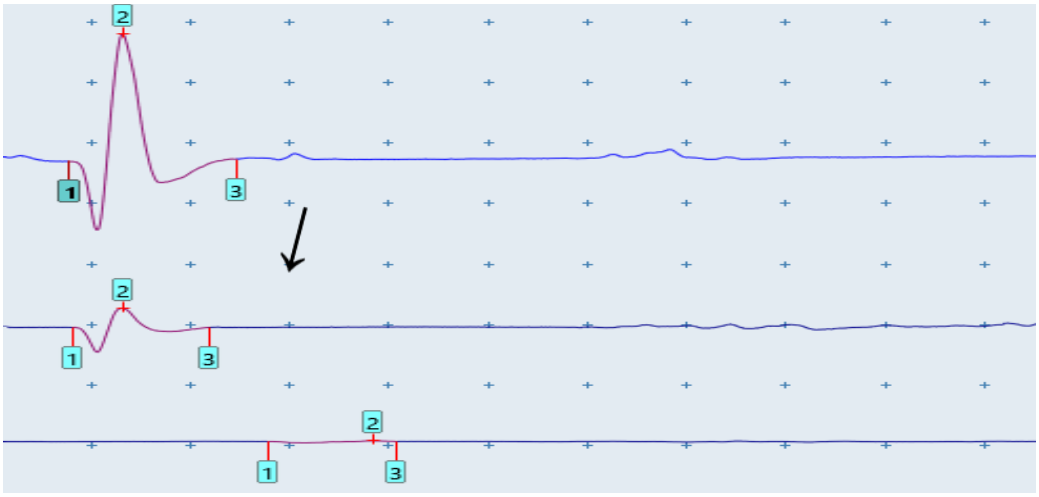


Рисунок 1 - Блок проведения импульса на кривой М-ответа у собаки из контрольной группы

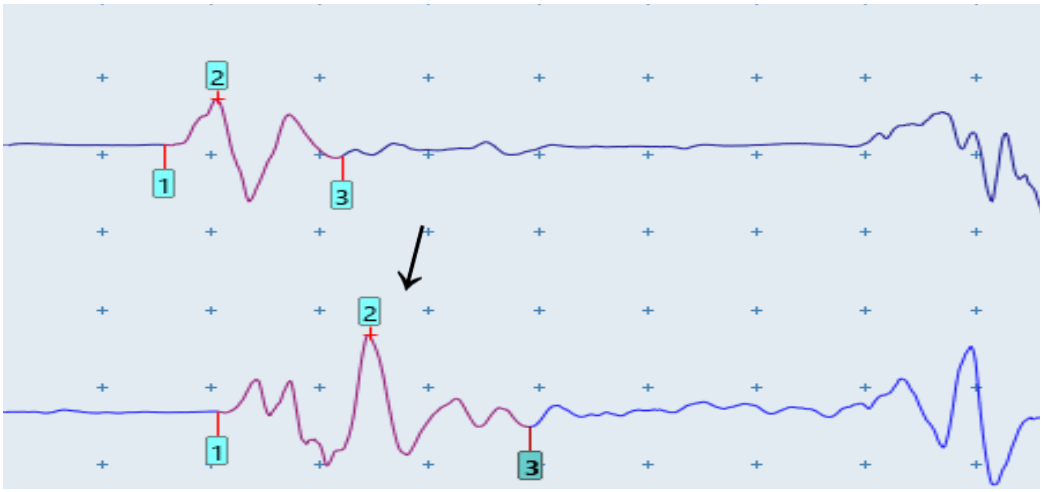


Рисунок 2 - Деформация М-ответа, полифазность у собаки из контрольной группы

Амплитуда потенциала у животных в контрольной группе для n. tibialis имела среднюю величину 0,28±0,05 мВ, в то время как у животных опытной группы изученный показатель составил 3,39±0,65 мВ, что было в 12,1 раза больше (0,001<p<0,002) и соответствовало нормальным критериям потенциала [5]. Амплитуда потенциала для n. peroneus у контрольных собак колебалась в пределах 0,45±0,03 мВ и была в 1,9 раза меньше (0,002<p<0,01), чем у животных в опытной группе - 0,86±0,1 мВ.

Полифазность М-ответа (5 и более фаз) отмечалась у 8 собак в контрольной группе, в опытной группе у 6 собак из 10. Однако, между группами отмечалось различие в количестве фаз М-ответа. У собак в контрольной группе количество фаз было равно 4-5, а в опытной группе животных отмечалось максимально 3 фазы кривой (рисунок 2). Такое разделение объясняется тем, что полифазность отмечается при димиелизирующих патологиях, диагностически значимым является наличие 5 и более фаз.

Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристики М-ответа у животных в зависимости от физической активности (M±m, n=10)

Группы животных	Среднее значение амплитуды n. tibialis, мВ	Среднее значение амплитуды n. peroneus, мВ	Частота встречаемости дисперсии М-ответа, голов	Частота встречаемости блока проведения импульса, голов
Опытная	3,39±0,65*	0,86±0,1*	6	2
Контрольная	0,28±0,05	0,45±0,03	8	8

*Примечание: * – различия статистически достоверны (p<0,05) при сравнении показателей опытной и контрольной групп*

ОБСУЖДЕНИЕ / DISCUSSION

М-ответ – суммарный потенциал действия (ПД) мышцы в ответ на раздражение иннервирующих ее эфферентных волокон (полностью отсутствует при атрофии мышцы, дегенерации, разрыве нерва). Амплитуда суммарного потенциала зависит от количества работающих мышечных волокон в составе двигательных единиц, синхронности рядом расположенных волокон и способности мышечных волокон к возбудимости. Следовательно, снижение амплитуды будет свидетельствовать о дистрофических процессах, протекающих в исследуемой области [5]. Оценивается также форма ПД по количеству фаз. Если отмечается наличие 5 и более фаз, то такие изменения указывают на изменения в структуре мышечного аппарата конечности и десинхронизации сокращений мышечных волокон (рисунок 2).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при старении организма накапливаются повреждения во всех структурах нервной системы. Это может быть связано с гибелью мотонейронов и их аксонов, вследствие этого происходит уменьшение амплитуды М-ответа, и коррелирует с выраженностью амиотрофий [5]. Такой вариант повреждений с нормальным значением скорости распространения возбуждения будет встречаться при аксональном типе поражения. Однако, при этом М-ответ будет сохранять правильную форму. Дисперсия М-ответа, выражающаяся в увеличении длительности М-ответа и появления полифазности, является признаком демиелизирующего поражения нейронов. Следственно, полифазия является графическим отображением несинхронного сокращения мышеч-

ных элементов из-за нарушения скачкообразного (сальтаторного) движения по миелиновому волокну нерва [6].

У контрольной группы животных без достаточного уровня двигательной активности наблюдали однотипные электрофизиологические нарушения нервно-мышечного аппарата, которые выражались в снижении амплитуды М-ответа, деформации М-ответа и характеризовались наличием блока проведения импульса.

У собак опытной группы изменения дегенеративного характера были выражены в меньшей степени за счет благоприятного влияния кинезиотерапии на метаболизм клеток, определяющих функциональность опорно-двигательного аппарата.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, в качестве критерия оценки влияния физической активности на организм животных, нами впервые было использовано ЭНМГ-исследование, которое убедительно доказывает, что двигательная активность позитивно влияет на поддержание функций нервно-мышечного аппарата, а также указывает на ее профилактическое влияние на проявление дегенеративных изменений у собак в возрасте 9-11 лет.

THE INFLUENCE OF PHYSICAL ACTIVITY ON THE MANIFESTATION OF AGE-RELATED DEGENERATIVE CHENGES IN THE NEUROMUSCULAR SYSTEM IN DOGS

Aleksandrova E.Y. – postgraduate student of the Department of Pathological Physiology (ORCID 0009-0002-5469-2105);
Kryachko O.V. – doctor of veterinary sciences, professor, Head of the Department of Pathological Physiology (ORCID 0000-0002-8996-8522).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, Russia

*ek.ilicheva.98@gmail.com

ABSTRACT

Degenerative changes in neuromuscular structures are an irreversible process in the pathogenesis of age-related changes. These include a decrease in the proportion of muscle tissue, the replacement of nerve structures with connective tissue elements, the development of synoptic depression and a decrease in the excitability and lability of the neuromuscular apparatus as a result. An important aspect of maintaining the quality of life of dogs older than 9 years is the prevention and postponement of irreversible degenerative processes. For this purpose, the introduction of physical activity into the protocols of prevention and rehabilitation after injuries is widespread in humane medicine. However, there is no convincing evidence base for the effectiveness of physical activity in relation to the prevention of age-related degenerative changes for animals. In the course of the work, the influence of physical activity on the manifestation of degenerative changes in animals aged 9 to 11 years was studied using an electrophysiological research method - electroneuromyography (ENMG). This technique helps to assess the functional state of neuromuscular structures using a graphical image (M-response curve). The obtained results show that the condition of the studied structures in the experimental group of animals according to the obtained electrophysiological data is estimated as more functionally preserved, compared with the animals of the control group. This is due to the fact that kinesiotherapy has a positive effect on the metabolic processes occurring at the cellular and tissue levels, thereby improving microcirculation and innervation of neuromuscular structures, and also has a restorative effect on the entire animal body The obtained results indisputably indicate the beneficial effect of physical activity on the state of the neuromuscular system of animals.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Александрова, Е. Ю. Электрофизиологические нарушения нервно-мышечных структур у собак крупных пород, выявленные при проведении электронейромиографии / Е. Ю. Александрова, О. В. Крячко // Материалы национальной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных

сотрудников и аспирантов СПбГУВМ, Санкт-Петербург, 30 января 2023 года / Племяшов К. В. (отв. редактор), А. А. Сухинин (редактор), Г. С. Никитин (редактор). – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2023. – С. 5-7. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?selid=50271312&id=50223148

2. Патологическая физиология животных. Общая нозология. Типовые патологические процессы / О. В. Крячко, Л. А. Лукоянова, В. Н. Гапонова [и др.]. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2022. – 151 с. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=50018768

3. Fiziopatologie: Tulburări Funcționale și Mecanisme Etiopatogence / O. V. Kryachko. – Cluj-Napoca: Risoprint, 2017. – 1000 p. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=32841527

4. Александрова, Е. Ю. Адаптация методики проведения стимуляционной электронейромиографии по моторным волокнам у собак на примере исследования n.tibialis / Е. Ю. Александрова, О. В. Крячко // 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 ноября 2021 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2021. – С. 13-14. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47481010

4. Патологическая физиология органов и систем: Учебно-методическое пособие / О. В. Крячко, Л. А. Лукоянова, К. А. Анисимова [и др.]. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2022. – 99 с. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=49103244

5. Veterinary neuropathology: essentials of theory and practice / Marc Vandevelde, Robert J. Higgins, Anna Oevermann, 2012. – 212 p.

6. Санадзе, А.Г. Клиническая электромиография для практических неврологов / А.Г. Санадзе, Л.Ф, Касаткина. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2022. – 80 с.

7. Патологическая физиология животных. Общая нозология. Типовые патологические процессы / О. В. Крячко, Л. А. Лукоянова, В. Н. Гапонова [и др.]. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2022. – 151 с. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=50018768

REFERENCES

1. Aleksandrova, E. Y. Electrophysiological disorders of neuromuscular structures in dogs of large breeds revealed during electroneuromyography / E. Y. Aleksandrova, O. V. Kryachko // Materials of the National scientific conference of the teaching staff, researchers and postgraduates of St. Petersburg State University of Economics, St. Petersburg, January 30 – 03, 2023 / Plemyashov K. V. (editor), A. A. Sukhinin (editor), G. S. Nikitin (editor). – St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2023. – pp. 5-7. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?selid=50271312&id=50223148

2. Pathological physiology of organs and systems: Educational and methodical manual / O. V. Kryachko, L. A. Lukoyanova, K. A. Anisimova [et al.]. – St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2022. - 99 p. URL : https://www.elibrary.ru/item.asp?id=49103244

3. Fisiopathology: functional disorders and etiopathogenesis mechanisms / O. V. Kryachko. - Cluj-Napoca: Risoprint, 2017. - 1000 p. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=32841527

4. Aleksandrova, E. Y. Adaptation of the method of stimulating electroneuromyography by motor fibers in dogs on the example of the study of n.tibialis / E. Y. Aleksandrova, O. V. Kryachko // Knowledge of the young for the development of veterinary

medicine and the agro-industrial complex of the country: Materials of the X anniversary International scientific conference of students, postgraduates and young scientists dedicated to the Year of Science and Technology, St. Petersburg-St. Petersburg, November 23-24, 2021. – St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2021. – pp. 13-14. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47481010

5. Veterinary neuropathology:essentials of theory and practice / Marc Vandevelde, Robert J. Higgins, Anna Oevermann, 2012. – 212 p.

6. Sanadze, A.G. Clinical electromyography for practical neurologists / A.G. Sanadze, L.F., Kasatkina. – 3rd ed., reprint. and additional – M.: GEOTAR-Media, 2022. – 80 p.

7. Pathological Physiology of animals. General Nosology: manual [study guide] / O.V. Kryachko, L.A. Lukoyanova, V.N. Gaponova, K.A. Anisimova, A.P. Shafiev; Ministry of Agriculture of the Russia Federation, FSBEI HE SPbSUVM. – Saint-Petersburg: Publishing House of SPbSUVM, 2023. – 87 p. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=50018768

УДК: 611.132.2: 599.742.75
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.306

АРХИТЕКТОНИКА ЛЕВОЙ КОРОНАРНОЙ АРТЕРИИ БУРОГО МЕДВЕДЯ

Хватов В.А. * – канд. ветеринар. наук, доц. каф. анатомии животных (ORCID: 0000-0001-5799-0816); **Былинская Д.С.** – канд. ветеринар. наук, доц. каф. анатомии животных (ORCID: 0000-0001-9997-5630).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* vitya-khvatov@yandex.ru

Ключевые слова: *бурый медведь, сердце, кровоснабжение, левая коронарная артерия, левый желудочек, межжелудочквая перегородка, левое предсердие.*

Key words: *brown bear, heart, blood supply, left coronary artery, left ventricle, interventricular septum, left atrium.*

Поступила: 10.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Сердце, как центральный орган сердечнососудистой системы, также имеет собственные артериальные магистрали для кровоснабжения своей стенки. В настоящее время васкуляризация сердца у животных изучена недостаточно, имеют противоречивые факты различных авторов отечественного и зарубежного происхождения по поводу типов кровоснабжения сердца у различных видов и пород домашних и диких животных, а также имеются не соответствия в топографии ветвей левой и правой коронарных артерий. Бурый медведь является распространенным хищником в Российской Федерации, которого часто можно встретить в различных публично -массовых учреждениях для содержания животных. Цель данного исследования является – изучение архитектоники левой коронарной артерии у бурого медведя. Для изучения анатомии сердца были взяты трупы бурого медведя в возрасте трех-пяти лет. Всего было исследовано шесть сердец бурого медведя, которые были доставлены на кафедру анатомии животных ФГБОУ ВО СПбГУВМ. Для изучения васкуляризации сердца исследуемых животных проводились классические и современные анатомические методики, такие как тонкое анатомическое препарирование и изготовление коррозионных препаратов с применением латекса. В результате исследования установлено, что у бурого медведя наблюдается преимущественно левовенечный тип кровоснабжения, так как у четырех особей левая коронарная артерия васкуляризировала область паракональной борозды, субсинуозной борозды и межжелудочковую перегородку. Но при этом также можно предположить, что у бурого медведя может встречаться равномерный тип кровоснабжения сердца, в связи с тем, что у двоих особей субсинуозная борозда кровоснабжалась правой коронарной артерией.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Ангиология является одним из сложнейших разделов в анатомии человека и животных. Артерии и вены имеют высокую вариативность в своей топографии, и могут наблюдаться расхождения в их ветвлении у особей одного вида и одной породы. Для того, чтобы выявить закономерности топографии артерий или вен необходимо провести ряд коррозионных и вазорентгенографических методик на большом количестве датированного трупного материала одного вида или одной породы животного. Сердце, как центральный орган сердечнососудистой системы, также имеет собственные артериальные магистрали для кровоснабжения своей стенки. В настоящее время васкуляризация сердца у животных изучена недостаточно, имеют противоречивые факты различных авторов отечественного и зарубежного происхождения по поводу типов кровоснабжения сердца у различных видов и пород домашних и диких животных, а также имеются не соответствия в топографии ветвей левой и правой коронарных артерий [1-6].

В процессе наших исследований мы ставим перед собой задачи: определить закономерности ветвления коронарных артерий сердца; дать наименования основным значимым магистралям; а также определить классификацию типов кровоснабжения сердца у животных.

Бурый медведь является распространенным хищником в Российской Федерации, которого часто можно встретить в различных публично-массовых учреждениях для содержания животных. Знание особенностей строения сердечно-сосудистой системы является важным образовательным фактором для работы ветеринарным специалистом в ветеринарных клиниках и различных хозяйствах. В связи со всем вышесказанным целью данного исследования является – изучение архитектоники левой коронарной артерии у бурого медведя [7,8].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHOD

Для изучения анатомии сердца были взяты трупы бурого медведя в возрасте трех-пяти лет. Анатомический материал был получен из ВОО Усть-Лужское охот-

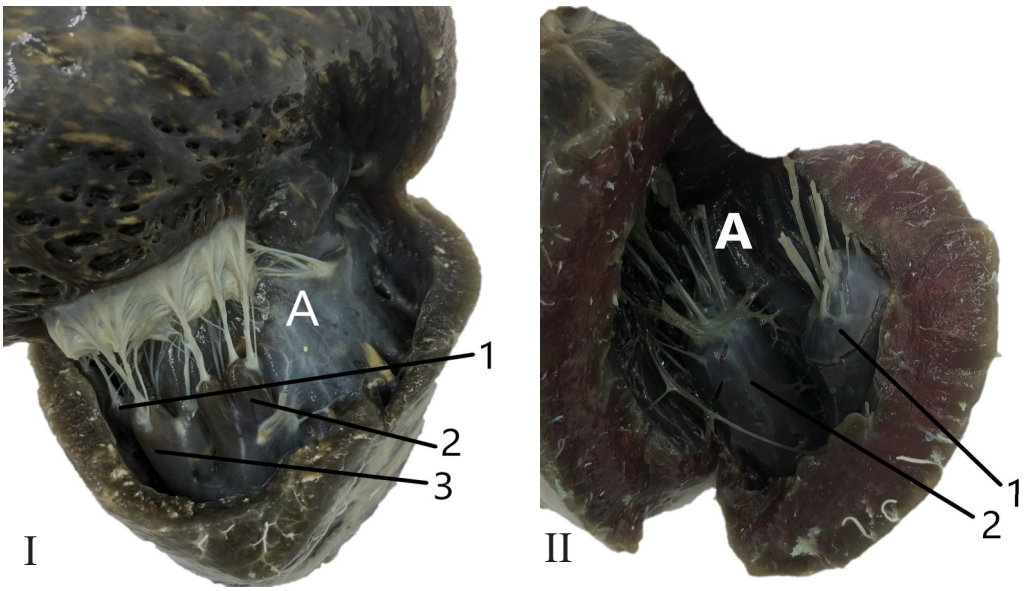


Рисунок 1 – Сердце бурого медведя: I – полость правого желудочка: 1 – малая сосочковая мышца; 2 – большая сосочковая мышца; 3 – подартериальная сосочковая мышца. II – полость левого желудочка: 1 – подушковая сосочковая мышца; подпредсердная сосочковая мышца.

хозяйство. Для исследования использовали трупы бурого медведя, пойманных в период с 01.08.23 по 10.09.2023 (разрешение на добычу серия 47 номер 025798 Глушонок Сергей Иванович) и доставлены на кафедру анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Всего было исследовано шесть сердец бурого медведя. Перед началом каждого исследования исключались органопатологии грудной полости, путем осмотра органов изучаемой области.

Для изучения васкуляризации сердца исследуемых животных проводились классические и современные анатомические методики, такие как тонкое анатомическое препарирование и изготовление коррозионных препаратов с применением латекса.

Трупный материал разогревали в водяной бане при температуре 30-35ºС. После чего сердце извлекалось из грудной полости вместе с прилегающими к нему магистральными сосудами. Путем тонкого анатомического препарирования осуществлялся доступ к коронарному руслу сердца и производилась его катетеризация. После этого коронарные артерии заполнялись латексом, а сердце помещалось на сутки в холодильную камеру при температуре 4ºС. Далее сердце погружали в 10% раствор формалина на несколько суток для полной фиксации латекса в просветах сосудов. На конечном этапе сердце подвергалось коррозионной обработке гидроокисью калия с поэтапным тонким анатомическим препарированием (Рисунок 1) [9-15].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

По результатам исследования было установлено, что левая коронарная артерия сердца у бурого медведя, отходя от луковицы аорты разветвляется на две магистральные ветви: окружную и паракональную.

Паракональная артерия после отхождения от левой коронарной артерии отдает в сторону межжелудочковой перегородки – межжелудочковую артерию, в сторону артериального конуса правого желудочка – левые конусные ветви, после чего она погружается в паракональную борозду и направляется к верхушке сердца. В паракональной борозде паракональная артерия отдает от одной до трех проксимальных, средних и дистальных ветвей миокарда левого желудочка, которые васкуляризируют левую поверхность стенки левого желудочка. В сторону левой поверхности стенки правого желудочка от нее отходит до шести ветвей миокарда правого желудочка. На верхушке сердца паракональная артерия разветвляется на свои конечные ветви, которые образуют анастомоз с ветвями субсинуозной артерии (Рисунок 2).

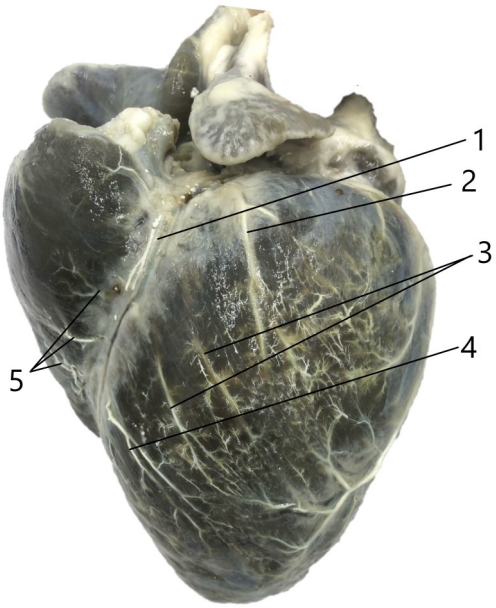


Рисунок 2 – Сердце бурого медведя: 1 – паракональная артерия; 2 – проксимальная ветвь миокарда левого желудочка; 3 – средние ветви миокарда левого желудочка; 4 – дистальная ветвь миокарда левого желудочка; 5 – ветви миокарда правого желудочка.

Межжелудочковая артерия направляется в межжелудочковую перегородку под полулунным клапаном легочного ствола, и поэтапно отдает латеральные и медиальные ветви, кровоснабжающие соответствующие участки межжелудочковой перегородки. Одна из таких медиальных ветвей кровоснабжает область атриовентрикулярного пучка проводящей системы сердца. Конечными ветвями межжелудочковой артерии у бурого медведя являются большая сосочковая артерия, малая сосочков артерия и подартерильная сосочковая артерия, которые кровоснабжают соответствующие мышцы.

Окружная артерия после отхождения от левой коронарной артерии погружается в венечную борозду, отдавая левую аурикулярную артерию, левые предсердные ветви, левые вентрикулярные ветви и левую диагональную артерию.

Левая аурикулярная артерия и левые предсердные ветви в количестве до четырех штук направляются проксимально в сторону левого предсердия и кровоснабжают левое сердечное ушко и стенку левого предсердия соответственно.

Левые венрикулярные ветви в количестве от трех до пяти направляются от окружной артерии дистально и васкуляризируют проксимальную треть стенки миокарда левого желудочка.

Самой крупной ветвью окружной артерии у бурого медведя является левая диагональная артерия. Она отходит от окружной на заднелевой поверхности сердца и спускается дистально. По-своему ходу она отдает латеральные и медиальные ветви для миокарда левого желудочка, а также подушковую и подпредсердную сосочковые артерии для одноименных мышц левого желудочка. Достигая дистальной трети стенки левого желудочка, левая диагональная артерия анастомозирует своими конечными ветвями с ветвями паракональной артерии. Латеральные ветви миокарда левого желудочка также своими концевыми ветвями образуют анастомозы с ветвями субсинуозной артерии (Рисунок 4).

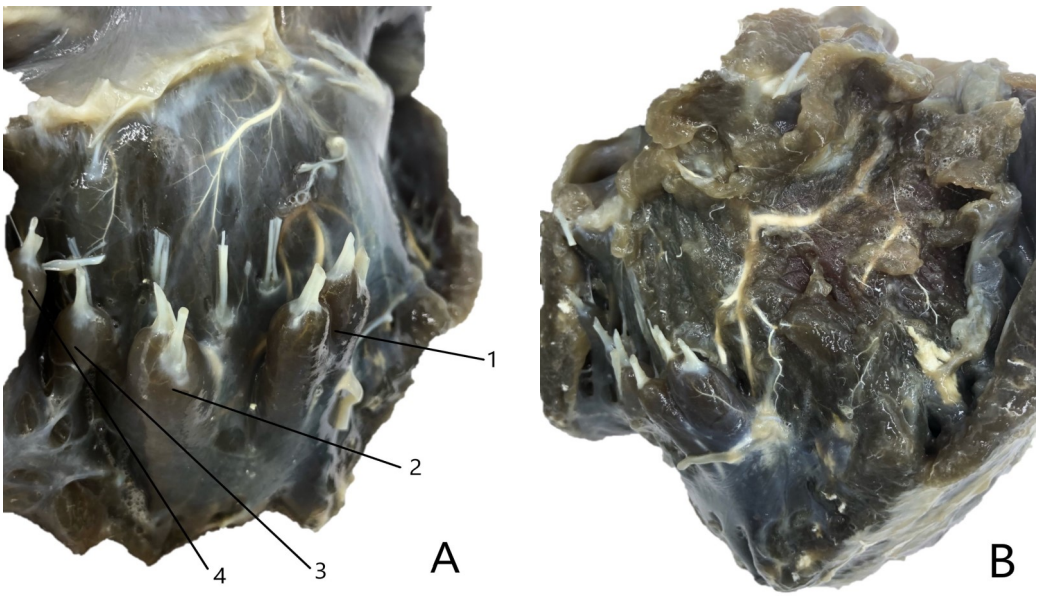


Рисунок 3 – Межжелудочковая перегородка сердца бурого медведя: А – межжелудочковая перегородка до препарирования межжелудочковой артерии: 1 – большая сосочковая мышца; 2 – подартериальная сосочковая мышца; 3 – малая сосочковая мышца; 4 –добавочная сосочковая мышца. В – межжелудочковая перегородка после препарирования межжелудочковой артерии.

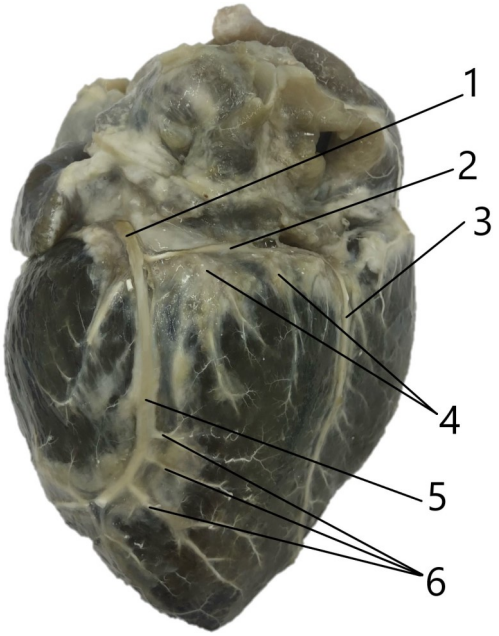


Рисунок 4 – Сердце бурого медведя: 1,2 – окружная артерия; 3 – субсинуозная артерия; 4 – левые вентрикулярные ветви; 5 – левая диагональная артерия; 5 – латеральные ветви миокарда левого желудочка.

После отхождения левой диагональной артерии окружная артерия уменьшается в диаметре и продолжается в области венечной борозды. Здесь у двоих особей бурого медведя окружная артерия истончалась и отдавала свою конечную ветвь – левую анастомотическую ветвь, которая участвовала в образовании коллатерального пути кровоснабжения с ветвями правой коронарной артерии (Рисунок 4).

У остальных четырех изученных особей окружная артерия достигала области субсинуозной борозды и отдавала в нее одноименную артерию. Также, помимо этого, в сторону овальной ямки и венечного синуса окружная артерия отдавала атриовентрикулярную ветвь для кровоснабжения атриовентрикулярного узла проводящей системы сердца.

Субсинуозная артерия направлялась по одноименной борозде в сторону верхушки сердца и отдавала проксимальные, средние, дистальные ветви миокарда левого желудочка, проксимальные, средние, дистальные ветви миокарда правого желудочка, которые кровоснабжают межжелудочковую перегородку, а также правую поверхность стенки левого и правого желудочков соответственно.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, можно сделать выводы, что у бурого медведя наблюдается преимущественно левовенечный тип кровоснабжения, так как у четырех особей левая коронарная артерия васкуляризировала область паракональной борозды, субсинуозной борозды и межжелудочковую перегородку. Но при этом также можно предположить, что у бурого медведя может встречаться равномерный тип кровоснабжения сердца, в связи с тем, что у двоих особей субсинуозная борозда кровоснабжалась правой коронарной артерией.

Полученные данные расширяют знания о топографии коронарных артерий сердца у животных, в частности у бурого медведя, а также могут быть использованы для дальнейшего исследования артериального русла сердца млекопитающих и птиц.

ARCHITECTONICS OF THE LEFT CORONARY ARTERY OF THE BROWN BEAR

Khvatov V.A. * – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0000-0001-5799-0816), **Bylinskaya D.S.** – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Animal Anatomy (ORCID: 0000-0001-9997-5630).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*vitya-khvatov@yandex.ru

ABSTRACT

The heart, as the central organ of the cardiovascular system, also has its own arterial lines to supply blood to its wall. Currently, the vascularization of the heart in animals has not been sufficiently studied, there are conflicting facts from various authors of

domestic and foreign origin regarding the types of blood supply to the heart in various species and breeds of domestic and wild animals, and there are also inconsistencies in the topography of the branches of the left and right coronary arteries. The brown bear is a common predator in the Russian Federation, which can often be found in various public institutions for keeping animals. The purpose of this study is to study the architectonics of the left coronary artery in a brown bear. To study the anatomy of the heart, the corpses of brown bears aged three to five years were taken. A total of six brown bear hearts were examined. To study the vascularization of the heart of the studied animals, classical and modern anatomical techniques were carried out, such as fine anatomical dissection and the production of corrosive preparations using latex. As a result of the study, it was established that the brown bear has a predominantly left coronal type of blood supply, since in four individuals the left coronary artery vascularized the area of the paraconal groove, subsinus groove and interventricular septum. But at the same time, it can also be assumed that a brown bear may have a uniform type of blood supply to the heart, due to the fact that in two individuals the subsinus groove was supplied with blood by the right coronary artery.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Зеленевский, Н. В. Практикум по ветеринарной анатомии: учебное пособие: в 3 -х томах / Н. В. Зеленевский, М. В. Щипакин; Зеленевский Н.В., Щипакин М.В. Том 2. – 2-е издание, дополненное и уточненное. – Санкт-Петербург: Информационно-консалтинговый центр Информационно-консалтинговый центр Информационно-консалтинговый центр, 2014. – 317 с. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=25722704

2. Сравнительная анатомия сердца и легких представителей семейства собачьих / Н. В. Зеленевский, А. В. Прусаков, М. В. Щипакин [и др.] // Материалы национальной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ, Санкт-Петербург, 21–25 января 2019 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2019. – С. 17. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=37095060

3. Глушонок, С. С. Морфологические особенности кровоснабжения сердца овцы породы дорпер / С. С. Глушонок, В. А. Хватов, М. В. Щипакин // Вклад молодых ученых в инновационное развитие АПК России : Сборник статей Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых, Пенза, 29–30 октября 2020 года. Том 2. – Пенза: Пензенский государственный аграрный университет, 2020. – С. 109-112. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=44665783

4. Слесаренко, Н. А. Анатомия домашних животных / Н. А. Слесаренко, Х. Б. Баймишев, И. В. Хрусталева. Том Часть 1. – Кинель: Самарская государственная сельскохозяйственная академия, 2015. – 318 с. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=23016889

5. Тарасевич, В. Н. Особенности строения двухстворчатого клапана сердца байкальской нерпы / В. Н. Тарасевич // Иппология и ветеринария. – 2020. – № 1(35). – С. 113-114. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=41653397

6. Тарасевич, В. Н. Некоторые особенности морфологии сердца носухи (nasua nasua) / В. Н. Тарасевич, Н. И. Рядинская // Международный вестник ветеринарии. – 2023. – № 1. – С. 205-211. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.1.205. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=53974068

7. Панкова, Н. Л. Бурый медведь в пригородных лесах / Н. Л. Панкова // Современное состояние и перспектива развития сети особо охраняемых природных территорий в промышленно развитых регионах: Материалы межрегиональной конференции, посвященной 20-летию природного парка «Нумто»: сборник научных статей, Белоярский, 23 марта 2017 года. – Белоярский: Нижневартовский государственный университет, 2017. – С. 57-59. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=30786720

8. Бурый медведь - общий объект экологического образования в странах-соседях на севере Европы / О. А. Макарова, Н. В. Поликарпова, П. Э. Аспхольм [и др.] // Естественнонаучное образование в современном мире: Материалы Международной научно-практической конференции, Мурманск, 19–21 марта 2019 года / Ответственный редактор Е.Г. Митина. – Мурманск: Мурманский арктический государственный университет, 2019. – С. 62-68. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=41368088
9. Рентгенографическая локация дуги аорты и ее ветвей у кошки домашней и рыси евразийской / Н. В. Зеленевский, М. В. Щипакин, Д. С. Былинская [и др.] // Аграрная наука. – 2022. – № 4. – С. 21-25. – DOI 10.32634/0869-8155-2022-358-4-21-25.
10. Патент № 2530159 C1 Российская Федерация, МПК A61K 49/04, A01N 1/02. Способ изготовления рентгеноконтрастной массы для вазорентгенографии при посмертных исследованиях животных: № 2013117666/13: заявл. 16.04.2013: опубл. 10.10.2014 / М. В. Щипакин, А. В. Прусаков, Д. С. Былинская, С. А. Куга; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины" (ФГБОУ ВПО СПБГАВМ). Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=37453806
11. Хватов, В. А. Особенности хода и ветвления коронарных артерий сердца коз англо-нубийской породы / В. А. Хватов, М. В. Щипакин // Международный вестник ветеринарии. – 2019. – № 2. – С. 116-119. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=38232074
12. Хватов, В. А. Анатомо-топографические закономерности строения предсердий сердца козы англо-нубийской породы / В. А. Хватов, М. В. Щипакин // 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. 84-87. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=41181984
13. Khvatov, V. Histological features of the atrial myocardium and scallop muscles of Anglo-Nubian goat (Capra aegagrus hircus) / V. Khvatov, M. Shchipakin // Online Journal of Animal and Feed Research. – 2021. – Vol. 11, No. 3. – P. 82-87. – DOI 10.51227/ojafr.2021.14.
14. Тарасевич, В. Н. Васкуляризация сердца у байкальской нерпы / В. Н. Тарасевич // Инновационные тенденции развития российской науки: Материалы XIII Международной научно-практической конференции молодых ученых, Красноярск, 08–09 апреля 2020 года. Том Часть I. – Красноярск: Красноярский государственный аграрный университет, 2020. – С. 96-99. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=43131976
15. Былинская, Д. С. Сравнительная анатомия венечных артерий сердца песца и домашней собаки / Д. С. Былинская, С. С. Глушонок, С. И. Мельников // Животноводство в современных условиях: новые вызовы и пути их решения : Материалы международной научно-практической конференции, посвящённой 70-летию со дня рождения профессора А.М. Гуськова, Орел, 26 октября 2022 года. – Орел: Орловский государственный аграрный университет имени Н.В. Парахина, 2023. – С. 16-19. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=50134458

REFERENCES

1. Zelenevsky, N. V. Practicum on veterinary anatomy: textbook: in 3 volumes / N. V. Zelenevsky, M. V. Shchipakin; Zelenevsky N.V., Shchipakin M.V. Volume 2. – 2nd edition, supplemented and clarified. – St. Petersburg: Information and Consulting Center Information and Consulting Center Infor-

mation and Consulting Center, 2014:317. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=25722704
2. Comparative anatomy of the heart and lungs of representatives of the canine family / N. V. Zelenevsky, A.V. Prusakov, M. V. Shchipakin [et al.] // Materials of the national scientific conference of the teaching staff, researchers and postgraduates of SPbGAVM, St. Petersburg, January 21-25, 2019. – St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2019:17. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=37095060
3. Glushonok, S. S. Morphological features of blood supply to the heart of a sheep of the Dorper breed / S. S. Glushonok, V. A. Khvatov, M. V. Shchipakin // Contribution of young scientists to the innovative development of the agro-industrial complex of Russia: Collection of articles of the All-Russian Scientific and Practical Conference of Young Scientists, Penza, October 29-30, 2020. Volume 2. – Penza: Penza State Agrarian University, 2020:109-112. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=44665783
4. Slesarenko, N. A. Anatomy of domestic animals / N. A. Slesarenko, H. B. Baymishev, I. V. Khrustaleva. Volume Part 1. – Kinel: Samara State Agricultural Academy, 2015. – 318 p. Access mode: https://elibrary.ru/item.asp?id=23016889
5. Tarasevich, V. N. Features of the structure of the bicuspid heart valve of the Baikal seal / V. N. Tarasevich // Hippology and veterinary medicine. – 2020: 1(35):113-114. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=41653397
6. Tarasevich, V. N. Some features of the morphology of the nasua nasua heart / V. N. Tarasevich, N. I. Ryadinskaya // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2023:1:205-211. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.1.205. Access mode: https://elibrary.ru/item.asp?id=53974068
7. Pankova, N. L. Brown bear in suburban forests / N. L. Pankova // The current state and prospects for the development of a network of specially protected natural territories in industrially developed regions: Materials of the interregional conference dedicated to the 20th anniversary of the Numto Nature Park: collection of scientific articles, Beloyarsky, March 23, 2017. – Beloyarsk: Nizhnevartovsk State University, 2017:57-59. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=30786720
8. The brown bear is a common object of environmental education in neighboring countries in northern Europe / O. A. Makarova, N. V. Polikarpova, P. E. Aspholm [et al.] // Natural science education in the modern world: Materials of the International Scientific and Practical Conference, Murmansk, March 19-21, 2019 / Responsible editor E.G. Mitina. – Murmansk: Murmansk Arctic State University, 2019:62-68. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=41368088
9. Radiographic location of the aortic arch and its branches in domestic cats and Eurasian lynx / N. V. Zelenevsky, M. V. Shchipakin, D. S. Bylinskaya [et al.] // Agrarian science. 2022:4:21-25. – DOI 10.32634/0869-8155-2022-358-4-21-25.
10. Patent No. 2530159 C1 Russian Federation, IPC A61K 49/04, A01N 1/02. Method of manufacturing radiopaque mass for vasorentgenography in postmortem studies of animals: No. 2013117666/13: application 16.04.2013: publ. 10.10.2014 / M. V. Shchipakin, A.V. Prusakov, D. S. Bylinskaya, S. A. Kuga; applicant Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education "St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine" (FGBOU VPO SPBGAVM). URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=37453806
11. Khvatov, V. A. Features of the course and branching of the coronary arteries of the heart of goats of the Anglo-Nubian breed / V. A. Khvatov, M. V. Shchipakin // International Bulletin of Veterinary Medicine. 2019:2:116-119. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=38232074
12. Khvatov, V. A. Anatomical and topographic patterns of the structure of the atria of the heart of the Anglo-Nubian goat breed / V. A. Khvatov, M. V. Shchipakin // Actual problems of veterinary morphology and higher veterinary education: Proceedings of the National Scientific and Practical Confer-

ence with international participation, Moscow, October 14-16, 2019. – Moscow: Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology - MBA named after K.I. Scriabin", 2019:84-87. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=41181984

13. Khvatov, V. Histological features of the atrial myocardium and scallop muscles of Anglo-Nubian goat (Capra aegagrus hircus) / V. Khvatov, M. Shchipakin // Online Journal of Animal and Feed Research. 2021:11:3:82-87. – DOI 10.51227/ojafr.2021.14.

14. Tarasevich, V. N. Vascularization of the heart in the Baikal seal / V. N. Tarasevich // Innovative trends in the development of Russian science: Materials of the XIII International Scientific and Practical Conference of Young Scientists, Krasnoyarsk, 08-09 April 2020. Volume Part I. – Krasnoyarsk: Krasnoyarsk State Agrarian University, 2020:96-99. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=43131976

15. Bylinskaya, D. S. Comparative anatomy of the coronary arteries of the heart of a arctic fox and a domestic dog / D. S. Bylinskaya, S. S. Glushonok, S. I. Melnikov // Animal husbandry in modern conditions: New challenges and ways to solve them: Materials of the international scientific and practical conference dedicated to the 70th anniversary of the birth of Professor A.M. Guskov, Orel, October 26, 2022. – Orel: Orel State Agrarian University named after N.V. Parakhin, 2023:16-19. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=50134458

УДК: 619:611.013.2:636.5
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.315

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПЕРЕШЕЙКА ЯЙЦЕВОДА У КУРИЦЫ КРОСС ХАЙСЕКС БЕЛЫЙ

Диких А.А. [1 *] – канд. ветеринар. наук, асс. кафедры нормальной физиологии (ORCID 0000-0002-4556-6142); **Фоменко Л.В.** [2] – д-р ветеринар. наук, проф. кафедры анатомии, физиологии, гистологии и патологической анатомии (ORCID 0009-0007-7047-7540); **Первенецкая М.В.** [2] – канд. ветеринар. наук, доц. кафедры анатомии, гистологии, физиологии и патологической анатомии (ORCID 0000-0002-3249-4645).

[1] ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет»
[2] ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П. А. Столыпина»

* aamatweewa150488@mail.ru

Ключевые слова: *яйцевод, перешеек, сосуды, альвеолярно-трубчатые железы, эпителий.*

Key words: *oviduct, isthmus, vessels, alveolar-tubular glands, epithelium.*

Поступила: 06.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Репродуктивная функция птиц и выводимость яиц являются одним из наиболее важных и определяющих факторов при выращивании домашних птиц, и зависит от ряда не только генетических, физиологических, экологических, но и морфологических факторов. Основная цель данной статьи – выявить особенности макро- и микроскопического строения перешейка яйцевода у курицы кросса хайсекс белый. Объектом исследования является яйцевод курицы кросса хайсекс белый в возрасте 180 суток. Для гистологического исследования материал фиксировали в 10%-ном водном растворе нейтрального формалина с последующей заливкой в парафин. Материалы исследования подвергнуты статистической обработке при помощи программы STATISTICA 6.1. В результате проведенных исследований нами отмечено, что перешеек яйцевода расположен между белковым отделом и птичьей маткой имеет небольшой диаметр, представляющий узкую полоску ткани (полупрозрачную зону) с наличием трубчатых желез. Слизистая оболочка перешейка выстлана многорядным реснитчатым эпителием. Между первичными складками отмечаются глубокие крипты, которые своим основанием внедряются глубоко в собственную пластинку, в них лежит множество разветвленных желез, открывающихся протоками на поверхность слизистой оболочки. В субэпителиальном слое собственной пластинки располагаются волокна рыхлой соединительной ткани, плотно окружая разветвленные трубчатые железы. Слизистая оболочка перешейка занимает 59,74% от всей толщины перешейка. Мышечная оболочка – 29,16%. В то время как на серозную оболочку приходится 11,1% от всей толщины стенки перешейка. Слизистая оболочка перешейка, в связи с активной секреторной функцией желез, в 2 раза больше толщины мышечной оболочки.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Птицеводство является высокоэффективной отраслью сельского хозяйства. Основные задачи по повышению продуктивности, улучшению качества продукции, проблем в кормлении, содержании птицы, технологии производства продуктов птицеводства невозможно решить без знаний морфологии и физиологии птицы, функции репродуктивных органов и систем. В связи с этим целью нашей работы изучение особенностей макро- и микроскопического строения перешейка яйцевода у курицы кросса хайсекс белый.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объектом исследования является яйцевод курицы кросса хайсекс белый в возрасте 180 суток. Для гистологического исследования материал фиксировали в 10%-ном водном растворе нейтрального формалина с последующей заливкой в парафин. Материалы исследования подвергнуты статистической обработке при помощи программы STATISTICA 6.1.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Перешеек расположен между белковым отделом и птичьей маткой в виде самого короткого участка яйцевода, имеющего небольшой диаметр и представляющий узкую полоску ткани (полупрозрачную зону) с наличием трубчатых желез [1, 2]. Стенка перешейка тонкая, состоит из слизистой, мышечной и серозной оболочек. Слизистая оболочка складчатая, содержит большое количество крупных первичных складок, ориентированных в продольном направлении. Первичные складки высокие, плоские, широкие, разделенные друг от друга глубокими криптами со слегка разветвленными верхушками. Между ними расположены вторичные и третичные складки.

Общее количество первичных складок слизистой оболочки на поперечном сечении перешейка варьировало от 34 до 36 штук. Вторичные складки более плоские мелкие, между ними залегают третичные складки. Высота первичных складок 1229,4±0,03 мкм, вторичных– 561,4±0,01 мкм, третичных – 115,2±0,04 мкм, что согласуется с исследованиями [3]. Однако, [4] считают, что верхушки первичных складок у кур иногда разветвляются и напоминают пальцеобразные выступы.

Слизистая оболочка перешейка выстлана многорядным реснитчатым эпителием (рис. 1). В поверхностном эпителии отмечено наличие реснитчатых и бокаловидных клеток, что согласуется с исследованиями [5]. В реснитчатых столбчатых клетках отчетливо видны апикальные сферические ядра. Высота слизистой оболочки составляет 3239,06±0,42 мкм

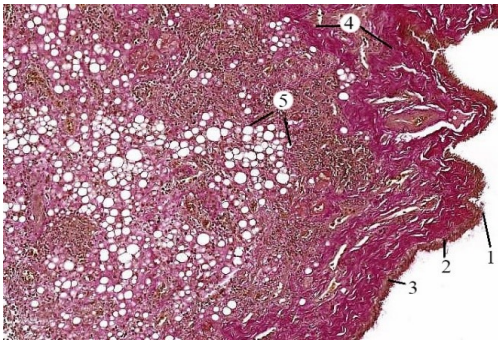


Рисунок 1 – Перешеек яйцевода курицы кросса хайсекс белый, возраст 180 суток (окраска по Ван Гизон, ув. х 200): 1 – слизистая оболочка; 2 – многорядный реснитчатый эпителий; 3 – собственная пластинка; 4 – мышечная оболочка; 5 – адипоциты.

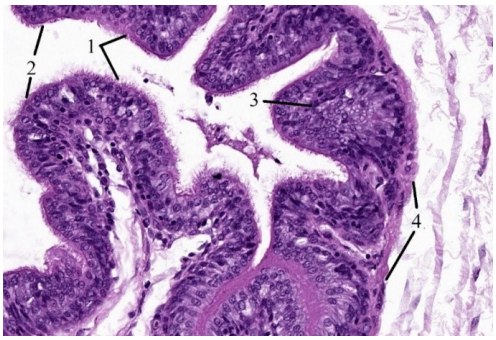


Рисунок 2 – Перешеек яйцевода: у курицы кросса хайсекс белый, возраст 180 суток (окраска по Маллори, ув. х 200): 1 – слизистая оболочка; 2 – многорядный реснитчатый эпителий; 3 – собственная пластинка; 4 – мышечная оболочка.

(H=11,8; p<0,001), что занимает 59,74% от всей толщины перешейка. Между первичными складками отмечаются глубокие крипты, которые своим основанием внедряются глубоко в собственную пластинку, в них лежит множество разветвленных желез, открывающихся протоками на поверхность слизистой оболочки. Под базальной мембраной поверхностного эпителия в соединительной ткани равномерно распределены пучки гладких мышечных волокон. В середине складок слизистая оболочка заполнена плотно упакованными секреторными ацинусами, а в центре подслизистой пластинки кроме пучков соединительной ткани располагаются гладкие мышечные волокна.

В субэпителиальном слое собственной пластинки располагаются волокна рыхлой соединительной ткани, плотно окружая разветвленные трубчатые железы. Последние выстланы столбчатыми и пирамидальными клетками, заполненные ацидофильной цитоплазмой (рис. 2). Толщина железистого эпителия составляет 11,46±0,53 мкм. Протоки трубчатых желез, выстланные столбчатым реснитчатым эпителием, в большинстве своем располагаются у основания складок или в глубоких криптах в глубине первичных складок, что согласуется с данными [6].

J. Balash et al. (2013) [7] считают, что эти железы отвечают за формирование оставшихся 10% белка яйца и его мембранных оболочек. Кроме того, они синтезируют наружную и внутреннюю мембраны подскорлуповой оболочки яйца. Причем внутренняя мембрана синтезируется, когда только желток, покрытый белком, проникает перешеек, а затем формируется наружная мембрана при прохождении яйца вдоль него. Между собственной пластинкой и подслизистой оболочкой хорошо отчетливой выражено наличие тонкого слоя гладких мышечных волокон. Подслизистая оболочка перешейка состоит из хорошо васкуляризированной соединительной ткани, имеющей большое количество коллагеновых волокон и наличием небольшого количества эластических волокон, что согласуется с мнением [8].

В подслизистой оболочке перешейка отмечены группы разветвленных альвеолярно-трубчатых желез с секреторными ацинусами, окруженными пучками соединительнотканных волокон. Их протоки открываются на поверхности слизистой оболочки. О наличии разветвленных трубчатых желез сообщают [5]. Железистые протоки выстланы многорядным столбчатым мерцательным эпителием с бокаловидными клетками и открываются в основание глубоких крипт со стороны первичных складок. Эпителиальные клетки, выстилающие железы, имеют сферические ядра с выступающими ядрышками в базальной части ацидофильной цитоплазмы (рис. 2).

Мышечная оболочка перешейка хорошо развита, имеет толщину 1576,2±0,46 мкм, (H=11,6; p<0,001), занимая у курицы 29,16% от всей толщины стенки перешейка. Она состоит из двух слоев, толстого внутреннего циркулярного и наружного продольного слоев гладких мышечных волокон. Аналогичные результаты были получены у индейки [7, 9]. За счет хорошо развитых циркулярных мышечных волокон осуществляется перистальтика и продвижение яйца в матку. Серозная оболочка имеет толщину 601,2±0,43 мкм (H=11,6; p<0,001), занимая 11,1% от всей толщины стенки перешейка. Она хорошо развита и состоит из рыхлой соединительной ткани и клеток мезотелия.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате проведенных исследований нами установлено, что слизистая оболочка перешейка яйцевода у курицы собрана в складки, которые покрыты псевдомногослойным столбчатым эпителием. Слизистая оболочка перешейка, в связи с активной секреторной функцией желез, в 2 раза больше толщины мышечной оболочки. Мышечная оболочка перешейка занимает у курицы 29,16%. В то время как на серозную оболочку приходится 11,1% от всей толщины стенки перешейка.

MORPHOLOGICAL STUDY OF THE ISTHMUS OF THE OVIDUCT IN THE CHICKEN CROSS HYSEX WHITE

Dikikh A.A.[1] – Candidate of Vet. n., Ass. of the Department of Normal Physiology; **Fomenko L.B.**[2] – Doctor of Vet.n., Professor of the Department of Anatomy, Physiology, Histology and Pathological Anatomy; **Pervenetskaya M.V.**[2] – Candidate of Vet. n., Associate Professor of the Department of Anatomy, Histology, Physiology and Pathological Anatomy.

[1] Omsk State Medical University,

[2] Omsk State Agrarian University named after P. A. Stolypin

* aamatweewa150488@mail.ru

ABSTRACT

The reproductive function of birds and the hatchability of eggs are one of the most important and determining factors in raising poultry, and depend on a number of not only genetic, physiological, environmental, but also morphological factors. The main goal of this article is to identify the features of the macro- and microscopic structure of the isthmus of the oviduct in a Highsex white cross chicken. The object of the study is the oviduct of a Highsex white cross chicken at the age of 180 days. For histological examination, the material was fixed in a 10% aqueous solution of neutral formaldehyde, followed by embedding in paraffin. The research materials were subjected to statistical processing using the STATISTICA 6.1 program. As a result of our research, we noted that the isthmus of the oviduct is located between the albumen section and the bird's uterus and has a small diameter, representing a narrow strip of tissue (translucent zone) with the presence of tubular glands. The mucous membrane of the isthmus is lined with multirow ciliated epithelium. Between the primary folds there are deep crypts, which with their base are embedded deep into the lamina propria; they contain many branched glands that open into ducts onto the surface of the mucous membrane. In the subepithelial layer of the lamina propria, fibers of loose connective tissue are located, tightly surrounding the branched tubular glands. The mucous membrane of the isthmus occupies 59.74% of the total thickness of the isthmus. Muscular membrane – 29.16%. While the serous membrane accounts for 11.1% of the total thickness of the isthmus wall. The mucous membrane of the isthmus, due to the active secretory function of the glands, is 2 times the thickness of the muscular layer.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Диких, А. А. Топография и анатомическое строение яйцевода у курицы кросса «хайсекс белый» / А. А. Диких, Л. В. Фоменко // Вестник ОмГАУ. – 2019. – № 1 (33). – С. 83-91.

2.Диких, А. А. Морфология яйцевода у домашних птиц / А. А. Диких, Л. В. Фоменко, О.А. Приступа // Вестник КрасГАУ. – 2021. – № 12 (177). – С. 162-166.

3.Кукшина, Ю. А. Структурно-функциональная характеристика яйцепровода кур / Ю. А. Кукшина, Р. З. Сиразиев. – Улан-Удэ : Изд-во БГСХА, 2007. – 78 с.

4.Царева, О. Ю. Микроморфологические и гистологические исследования скорлупового отдела яйцевода кур в разные фазы полового цикла / О. Ю. Царева // Сборник научных трудов. – Омск, 1991 – С. 50.

5.Parto, P. The microstructure of oviduct in laying turkey hen as observed by light and scanning electron microscopies World / P. Parto, Z. Khaksar, A. Akramifard, B. Moghii / J. Zoo. (2): – (2011) – P.120-125.

6.Mehta, S. Comparative Histological study on the oviduct of developing and laying hens (Gallus domesticus) / S. Mehta, K. Guha / Ind. J. Vet. Anat. (2012) 24(2) – P.92-94.

7.Balash, J. Histological study of the isthmus segment of the oviduct in female turkey at egg laying stage / J. Balash, E. F. AL - Baghdady / AL- Qadisiya Journal of Vet. Med. – 2013. – P.12:2.

8.Ghule, P. M. Histomorphological study of the oviduct in Japanese quail Indian / P. M. Ghule, S. A. Gaikwad, P. L. Dhande, S. B. Lambate, A. D. Patil / J. Vet. Anat. – 2010. – 23 (1) – P. 40-42.

9.Lucy, K. M. Structure and Postnatal development of magnum in japanese quail (Coturnix coturnix japonica) / K. M. Lucy, K. R. Harshan / Journal of Veterinary and Animal Sciences: – 2011. – (31) – P. 40-43.

REFERENCES

1.Dikikh AA, Fomenko LV, Topography and anatomical structure of the oviduct in the chicken cross "high-sex white" OmGAU Bulletin.2019;1(33):83-91. [in Russ.]
2.Dikikh AA, Fomenko LV, et al. Morphology of the oviduct in domestic birds. Bulletin of the KrasGAU.2021;12(177):162-166. DOI: 10.36718/1819-4036-2021-12-162-166 [in Russ.]
3.Kokshina YuA, Structural and functional characteristics of egg-laying chickens. 2007;78. DOI:10.52419/issn2072-2419.2022.3.157 [in Russ.]
4.Tsareva OYu, Micromorphological and histological studies of the eggshell department of chickens in different phases of the polo cycle. Collection of scientific works. 1991:50. [in Russ.]
5.Parto P, Khaksar Z, Akramifard A, et al. The microstructure of oviduct in laying turkey hen as observed by light and scanning electron microscopies World J. Zoo. 2011; (2):120-125. ISSN 1817-3098
6.Mehta S, Guha K, Comparative Histological study on the oviduct of developing and laying hens (Gallus domesticus) J. Vet. Anat. 2012;24(2):92-94. DOI:10.14202/vetworld.2014.271-274
7. Balash J, AL -Baghdady EF, Histological study of the isthmus segment of the oviduct in female turkey at egg laying stage. AL-Qadisiya Journal of Vet. Med. 2013.12:2. DOI:10.29079/vol12iss2art250
8.Ghule PM, Gaikwad S.A, Dhande PL, et al. Histomorphological study of the oviduct in Japanese quail Indian J. Vet. Anat. 2010;23(1): 40-42.DOI: 85687560
9.Lucy KM, Harshan KR, Structure and Postnatal develop-ment of magnum in japanese quail (Coturnix coturnix japonica) J of Veterinary and Animal Sciences.2011;(31): 40-43.DOI:10.1080/00071667108415903

УДК: 611.718.4:636.934.55-053
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.320

ВОЗРАСТНЫЕ АНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БЕДРЕННОЙ КОСТИ СОБОЛЯ ЧЕРНОЙ ПУШКИНСКОЙ ПОРОДЫ В УСЛОВИЯХ ОГРАНИЧЕННОЙ ПОДВИЖНОСТИ

Яволовская Я.О. * – соиск. каф. анатомии животных (ORCID: 0000-0000-0002-2533-8708); **Щипакин М.В.** – д-р ветеринар. наук, проф. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0002-2960-3222).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* yavolovskaya94@bk.ru

Ключевые слова: *бедренная кость, эпифиз, диафиз, диаметр, головка, шейка, коленная чашка, подвижность, сустав.*

Key words: *femur, epiphysis, diaphysis, diameter, head, neck, kneecap, mobility, joint.*

Поступила: 15.04.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Знание особенностей строения скелета тазовой конечности необходимы ветеринарному специалисту, выполняющему оперативные вмешательства на данной области тела. Именно строение тазовых конечностей дает относительную пружинистость телу соболя при скачкообразном беге и быстроту движений и реакции на окружающие действия. В связи с вышесказанным, актуальность данного исследования не вызывает сомнений. Исследование проводили на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Объектами для проведения данного исследования послужили трупы соболя черной пушкинской породы двух возрастных групп: 15-20 месяцев от рождения (физиологическая зрелость) и 36-40 месяцев от рождения (половая зрелость). Для достижения поставленной задачи использовали комплекс традиционных анатомических методов исследования: тонкое анатомическое препарирование, мацерация, фотографирование и морфометрия. Были установлены возрастные анатомические особенности скелета и морфометрические данные бедренной кости соболя черной пушкинской породы в условиях ограниченной подвижности. Соболя, обитая в естественных условиях получают значительные физические нагрузки на тазовую конечность. Этим и объясняется уменьшение диаметра шейки бедра у животных с ограниченной динамикой с возрастом. Содержание этих животных в условиях звероводческих хозяйств значительно снижает уровень локомоции, что безусловно сказывается на развитие костей и их структур. Блок коленной чашки как адаптационная структура получает значительное дополнительное латеро-латеральное и проксимальное развитие, проявляющиеся в виде гребней, выходящих за пределы компактного вещества коленного блока. Такое строение блока способствует максимальной экстензии коленного сустава при сокращении четырехглавой мышцы бедра.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

По архивным данным в XII-XVIII веке большая популяция соболей обитала на территории Российской Федерации в Карелии, Смоленске, Брянске, Казани, а также в Белоруссии, Литве.

В результате выжигания, вырубки, распашки лесополосы, а также пожаров и усиленного промысла в европейской части континента соболь начал исчезать из естественных ареалов. За относительно короткий срок своего существования звероводство как отрасль сельского хозяйства достигло значительных результатов в доместикации пушных зверей.

Одомашнивание животного коренным образом изменяет условия для дальнейшего развития вида. Естественное эволюционное развитие заменяется искусственной селекцией по критериям разведения.

В апреле 2011 года министром сельского хозяйства Российской Федерации была утверждена отраслевая целевая программа «Развитие клеточного разведения соболей (соболеводства) в Российской Федерации на 2011 − 2013 гг. и на период до 2021 г.». В ней предусматривается создание экономических и технологических условий для устойчивого развития соболеводства и увеличения объемов производства шкурок соболей клеточного разведения до 50 тыс. шт. в 2013 г. и до 100 тыс. шт. в 2021 г.

Знание особенностей строения скелета тазовой конечности необходимы ветеринарному специалисту, выполняющему оперативные вмешательства на данной области тела. Именно строение тазовых конечностей дает относительную пружинистость телу соболя при скачкообразном беге и быстроту движений и реакции на окружающие действия. В связи с вышесказанным, актуальность данного исследования не вызывает сомнений.

Цель исследования – изучить возрастные особенности скелета и морфометрические данные бедренной кости соболя черной пушкинской породы в условиях ограниченной подвижности [1-6].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHOD

Исследование проводили на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Кадаверный материал для исследования был доставлен на кафедру анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» со звероводческого хозяйства Ленинградской области. Объектами для проведения данного исследования послужили трупы соболя черной пушкинской породы двух возрастных групп: 15-20 месяцев от рождения (физиологическая зрелость) и 36-40 месяцев от рождения (половая зрелость) в количестве 10 штук в каждой группе. Для достижения поставленной задачи использовали комплекс традиционных анатомических методов исследования: тонкое анатомическое препарирование, мацерация, фотографирование и морфометрия. При описании анатомических терминов использовали Международную ветеринарную анатомическую номенклатуру (пятая редакция). Измерение проводили электронным штангенциркулем Орбита OT-INM02 со шкалой деления 0,01 мм, производство Россия [7-13].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате исследования было установлено, что бедренная кость у данных животных является крупной трубчатой костью, которая служит основным рычагом в локомоторном аппарате. Тело бедренной кости у данных особей незначительно S-образно изогнуто.

В первой возрастной группе соболей черной пушкинской породы наибольшая длина бедренной кости в среднем составляет – 72,01±0,70 мм, у второй группы – 73,84±0,75 мм. Таким образом, учитывая морфометрические данные длина бедренной кости возрастает к 36-40 месячному возрасту увеличивается в 1,03 раза по сравнению с 15-20 месячными соболями.

На бедренной кости различают: тело или диафиз (corpus ossis femoris) и два эпифиза – проксимальный и дистальный (epiphisis proximalis et distalis).

Диаметр тела или диафиза в средней трети кости у особей в 15-20 месяцев составляет в среднем – 4,68±0,40 мм. В верхней части проксимальной трети данный показатель в среднем равняется – 5,65±0,50 мм, а в дистальной трети – 5,81±0,55 мм. У соболей второй возрастной группы данный показатель составляет на точке в средней трети кости – 5,48±0,55 мм, в проксимальной части – 6,15±0,60 мм и в дистальной части – 6,45±0,60 мм. По морфометрическим данным диаметр диафиза бедренной кости в средней трети увеличивается к 36-40 месячному возрасту в 1,17 раза, в проксимальных и дистальных частях в 1,09 раза и 1,11 раза соответственно по сравнению с 15-20 месячными соболями.

На проксимальном эпифизе бедренной кости располагается головка (caput ossis femoris) округлой формы, которая обращена медиально. На ее вершине располагается ямка головки бедренной кости (fossa capitis ossis femoris). Диаметр головки бедренной кости у соболей первой возрастной группы в среднем составляет – 6,52±0,60 мм, а у особей второй группы – 7,37±0,70 мм. По данным морфометрии диаметр головки бедренной кости увеличивается к 36-40 месячному возрасту в 1,13 раза по сравнению с 15-20 месячными соболями.

На проксимальном эпифизе за головка бедренной кости располагается хорошо выраженная – шейка (collum ossis femoris), диаметр которой у соболей первой возрастной группы в среднем составляет – 4,48±0,50 мм, а у особей второй группы она истончается и в среднем составляет – 4,12±0,40 мм. По морфометрическим данным диаметр шейки бедренной кости уменьшается к 36-40 месячному возрасту в 1,09 раза по сравнению с 15-20 месячными соболями.

Латерально от головки располагается большой вертел (trochanter major), у которого ягодичная поверхность в виде шероховатости, служащей для закрепления ягодичной группы мышц. Головка бедренной кости на 0,1-0,2 мм возвышается над большим вертелом. От большого вертела дистально простирается хорошо выраженный межвертлужный гребень (crista intertrochanterica), который ограничивает неглубокую вертлужную ямку (fossa trochanterica), которая плавно переходит в малый вертел (trochanter minor).

Длина проксимального эпифиза бедренной кости у первой группы в среднем составляет – 12,95±0,10 мм, у второй группы – 14,82±0,15 мм. При этом, учитывая морфометрические данные длина бедренной кости возрастает к 36-40 месячному возрасту увеличивается в 1,14 раза по сравнению с 15-20 месячными соболями.

На дистальном эпифизе бедренной кости с краниальной поверхности образуется блок (trochlea ossis femoris), который предназначен для прикрепления коленной чашки (patella). Блок имеет вид желоба, который вытягивается продольно и ограничивается равномерными латеральным и медиальным блоковыми гребнями (crista trochlearis lateralis et medialis). Они контурированы и выходят за пределы компактного вещества кости. По данному желобу коленная чашка скользит во время работы коленного сустава и заходит на медиальный гребень во время покоя, при этом удерживается на нем благодаря наличию специальной площадки – ямки коленной чашки.

На дистальном эпифизе бедренной кости с каудальной поверхности образуются латеральный и медиальный мыщелки (condyles lateralis et medialis), которые отделены друг от друга межмыщелковой ямкой (fossa intercondylaris) необходимой для закрепления крестовидных связок. Дорсально над латеральным и медиальным мыщелком находится по одной суставной поверхности, которая необходима для прикрепления сесамовидных костей.

Над латеральным и медиальным мыщелками возвышаются с неровными краями соответствующие надмышелки (epicondylus lateralis et medialis), на которых закрепляются боковые латеральные и медиальные связки коленного сустава и держатели надколенника. На латеральном

надмыщелке на латеральной поверхности расположены две неглубокие ямки: разгибательная ямка (fossa extensoria) – глубокая, которая служит для прикрепления разгибателей пальцев и третьей малоберцовой мышцы и ямка подколенной мышцы (fossa m. poplitea) – неглубокая, которая служит для прикрепления подколенной мышцы. Дорсально над мыщелками вместо надмыщелковой ямки, располагается надмышелковая шероховатость только у особей 36-40 месяцев от рождения.

Длина дистального эпифиза бедренной кости у первой группы в среднем составляет – 12,01±0,10 мм, у второй группы – 14,45±0,15 мм. При этом, учитывая морфометрические данные длина бедренной кости возрастает к 36-40 месячному возрасту увеличивается в 1,20 раза по сравнению с 15-20 месячными соболями.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, в результате исследования были установлены возрастные анатомические особенности скелета и морфометрические данные бедренной кости соболя черной пушкинской породы в условиях ограниченной подвижности. Генетически запрограммировано, что диаметр шейки бедренной кости соответствует уровню физической нагрузки. Соболя, обитая в естественных условиях получают значительные физические нагрузки на тазовую конечность. Содержание этих животных в условиях звероводческих хозяйств значительно снижает уровень локомоции, что безусловно сказывается на развитие костей и их структур. Этим и объясняется уменьшение диаметра шейки бедра у животных с ограниченной динамикой с возрастом.

По-нашему мнению, соболь черной пушкинской породы находясь в условиях ограниченной подвижности (шеды размерами: для взрослых зверей – ширина 54 см, глубина 42 см и высота 40 см; для молодняка – ширина 35 см, глубина 28 см и высота 35 см), где максимальная нагрузка приходится на разгибатели коленного и скакательного суставов. В связи с этим блок коленной чашки как адаптационная структура получает значительное дополнительное латеро-латеральное и проксимальное развитие, проявляющиеся в виде гребней, выходящих за пределы компактного вещества коленного блока. Такое строение блока способствует максимальной экстензии коленного сустава при сокращении четырехглавой мышцы бедра.

AGE-RELATED ANATOMICAL FEATURES OF THE FEMUR OF THE SABLE OF THE BLACK PUSHKIN BREED IN CONDITIONS OF LIMITED MOBILITY

Yavolovskaya Y. O. * – candidate of the Faculty. animal anatomy (ORCID: 0000-0000-0002-2533-8708), **Shchipakin M.V.** – Doctor of Veterinary Sciences, Prof. Animal Anatomy (ORCID 0000-0002-2960-3222).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* yavolovskaya94@bk.ru

ABSTRACT

Knowledge of the structural features of the pelvic limb skeleton is necessary for a veterinary specialist performing surgical interventions on this area of the body. It is the structure of the pelvic limbs that gives the relative springiness to the body of the sable with a jumpy run and the speed of movements and reactions to surrounding actions. In connection with the above, the relevance of this study is beyond doubt. The study was conducted at the Department of Animal Anatomy of the St. Petersburg State University of Veterinary Medicine. The objects for this study were the corpses of the black Pushkin sable breed of two age groups: 15-20 months from birth (physiological maturity) and 36-40 months from birth (puberty). To achieve this task, a complex of traditional anatomical research methods was used: fine anatomical dissection, maceration, photographing and morphometry. The age-related anatomical features of the skeleton and morphometric data of the femur of the sable of the Black Pushkin breed in conditions of limited mobility were established. Sables, living in natural conditions, receive significant physical exer-

tion on the pelvic limb. This explains the decrease in the diameter of the femoral neck in animals with limited dynamics with age. Keeping these animals in the conditions of fur farms significantly reduces the level of locomotion, which certainly affects the development of bones and their structures. The patella block as an adaptive structure receives significant additional lateroal and proximal development, manifested in the form of ridges extending beyond the compact substance of the knee block. This structure of the block contributes to the maximum extension of the knee joint with the contraction of the quadriceps femoral muscle.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Рядинская, Н. И. Особенности строения скелета соболя / Н. И. Рядинская, Ю. М. Малофеев // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2008. – № 4(20). – С. 25-27. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=14751162
2. Паркалов, И. В. Перспективы клеточного соболеводства и акклиматизация соболя в южном регионе России / И. В. Паркалов // Кролиководство и звероводство. – 2018. – № 4. – С. 39-43. – DOI 10.24418/KIPZ.2018.4.0010. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=35490510
3. Слесаренко, Н. А. Структурный адаптогенез скелета конечностей животных при различной статолокомоции / Н. А. Слесаренко, Э. К. Гасангусейнова, Е. О. Широкова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2013. – № 5(43). – С. 94-97. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=20518230
4. Щипакин, М. В. Возрастные закономерности васкуляризации органов тазовой конечности и тазовой полости хоря золотистого: специальность 16.00.02: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук / Щипакин Михаил Валентинович. – Санкт-Петербург, 2007. – 17 с. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=15855724
5. Щипакин, М. В. Морфометрия бедренной, большеберцовой и малоберцовой костей выдры обыкновенной / М. В. Щипакин, Д. В. Васильев // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства : сборник трудов по материалам международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения доктора биологических наук, профессора, Заслуженного работника Высшей школы РФ, Почётного работника высшего профессионального образования РФ, Почётного профессора Брянской ГСХА, Почётного гражданина Брянской области Егора Павловича Ващекина, Брянск, 24 января 2023 года. – Брянск: Брянский государственный аграрный университет, 2023. – С. 351-354. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=50411090
6. Зеленевский, Н. В. Анатомия и физиология животных: учебник / Н. В. Зеленевский, М. В. Щипакин, К. Н. Зеленевский. – 2-е издание, стереотипное. – Санкт-Петербург: Издательство "Лань", 2018. – 368 с. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=32485444
7. Былинская, Д. С. Морфология костей тазовой конечности рыси евразийской / Д. С. Былинская // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2014. – № 1(21). – С. 3-9. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=21251410
8. Былинская, Д. С. Артериальное кровоснабжение свободной тазовой конечности немецкой овчарки / Д. С. Былинская, А. В. Прусаков, Н. В. Зеленевский [и др.] //. Иппология и ветеринария., 2019. – № 2 (32). – С. 106-110. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=37633067
9. Былинская, Д. С. Строение и васкуляризация органов тазовой конечности рыси евразийской на некоторых этапах постнатального онтогенеза: специальность 06.02.01 "Диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных": автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук / Былинская Дарья Сергеевна. – Санкт-Петербург, 2014. – 22 с. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=30412491

10. Карпенко, Д. О. Морфометрические показатели таза собак породы эстонская гончая / Д. О. Карпенко, Д. С. Былинская // Актуальные вопросы развития отраслей сельского хозяйства: теория и практика: Материалы || Всероссийской (с международным участием) научно-практической конференции молодых ученых АПК, Рассвет, 12–15 мая 2020 года. – Ростов-на-Дону - Таганрог: Издательство Южного федерального университета, 2020. – С. 150-152. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=43050750

11. Рядинская, Н. И. Скелет байкальской нерпы: учебное пособие / Н. И. Рядинская, И. В. Аникиенко, Д. Р. Иконникова [и др.]; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Иркутский государственный аграрный университет имени А.А. Ежевского. – Молодежный: Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского, 2020. – 61 с. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=44177745

12. Хватов, В. А. Особенности анатомии мышц коленного сустава козы англо-нубийской породы / В. А. Хватов, Д. В. Васильев, Д. С. Былинская, А. С. Стратонов // 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. 108-110. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=44736454

13. Щипакин, М. В. Закономерности развития костей периферического скелета собаки в пренатальный период онтогенеза / М. В. Щипакин, Н. В. Зеленевский //. – 2012. – № 1(3). – С. 92-93. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=26664420

REFERENCES

1. Ryadinskaya, N. I. Features of the structure of the sable skeleton / N. I. Ryadinskaya, Yu. M. Malofeev // Izvestiya Orenburg State Agrarian University. 2008:4 (20):25-27. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=14751162

2. Parkalov, I. V. Prospects of cellular sable breeding and acclimatization of sable in the southern region of Russia / I. V. Parkalov // Rabbit breeding and animal husbandry. 2018:4:39-43. – DOI 10.24418/KIPZ.2018.4.0010. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=35490510

3. Slesarenko, N. A. Structural adaptogenesis of the skeleton of animal limbs with various statolocomotion / N. A. Slesarenko, E. K. Gasanguseinova, E. O. Shirokova // Proceedings of the Orenburg State Agrarian University. 2013:5(43):94-97. Access mode: https://elibrary.ru/item.asp?id=20518230

4. Shchipakin, M. V. Age-related patterns of vascularization of the pelvic limb and pelvic cavity of the golden horus: specialty 16.00.02: abstract of the dissertation for the degree of Candidate of Veterinary Sciences / Shchipakin Mikhail Valentinovich. – St. Petersburg, 2007:17. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=15855724

5. Shchipakin, M. V. Morphometry of the femoral, tibial and fibular bones of the common otter / M. V. Shchipakin, D. V. Vasiliev // Actual problems of intensive development of animal husbandry : a collection of papers based on the materials of the international scientific and practical conference dedicated to the 90th anniversary of the birth of Doctor of Biological Sciences, Professor, Honored Worker of the Higher School of the Russian Federation, Honorary Worker of Higher Professional Education of the Russian Federation, Honorary Professor of the Bryansk State Agricultural Academy, Honorary Citizen of the Bryansk region Egor Pavlovich Vashchekin, Bryansk, January 24, 2023. – Bryansk: Bryansk State Agrarian University, 2023:351-354. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=50411090

6. Zelenevsky, N. V. Anatomy and physiology of animals: textbook / N. V. Zelenevsky, M. V. Shchipakin, K. N. Zelenevsky. – 2nd edition, stereotypical. – St. Petersburg: Publishing House "Lan", 2018:368. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=32485444

7. Bylinskaya, D. S. Morphology of the pelvic limb bones of the Eurasian lynx / D. S.

Bylinskaya // Topical issues of veterinary biology. 2014:1(21):3-9. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=21251410
8. Bylinskaya, D. S. Arterial blood supply to the free pelvic limb of the German Shepherd / D. S. Bylinskaya, A.V. Prusakov, N. V. Zelenevsky [et al.] //. Hippology and veterinary medicine., 2019:2(32):106-110. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=37633067
9. Bylinskaya, D. S. The structure and vascularization of the pelvic limb organs of the Eurasian lynx at some stages of postnatal ontogenesis: specialty 06.02.01 "Diagnosis of diseases and therapy of animals, pathology, oncology and morphology of animals": abstract of the dissertation for the degree of Candidate of veterinary Sciences / Bylinskaya Darya Sergeevna. – St. Petersburg, 2014:22. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=30412491
10. Karpenko, D. O. Morphometric indicators of the pelvis of dogs of the Estonian hound breed / D. O. Karpenko, D. S. Bylinskaya // Topical issues of the development of agricultural industries: theory and practice: Materials || All-Russian (with international participation) scientific and practical conference of young scientists of the agro-industrial complex, Dawn, May 12-15, 2020. – Rostov-on-Don - Taganrog: Southern Federal University Press, 2020:150-152. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=43050750
11. Ryadinskaya, N. I. The skeleton of the Baikal seal: a textbook / N. I. Ryadinskaya, I. V. Anikienko, D. R. Ikonnikova [et al.]; Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Irkutsk State Agrarian University named after A.A. Yezhevsky. – Youth: Irkutsk State Agrarian University named after A.A. Yezhevsky, 2020:61 p. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=44177745
12. Khvatov, V. A. Features of the anatomy of the muscles of the knee joint of the Anglo-Nubian goat breed / V. A. Khvatov, D. V. Vasiliev, D. S. Bylinskaya, A. S. Stratonov // Materials of the national scientific conference of the teaching staff, researchers and postgraduates of St. Petersburg, January 25-29, 2021. – St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2021:108-110. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=44736454
13. Shchipakin, M. V. Regularities of the development of the bones of the peripheral skeleton of a dog in the prenatal period of ontogenesis / M. V. Shchipakin, N. V. Zelenevsky //2012:1(3):92-93. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=26664420

УДК: 612.115:619:636.5.033
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.327

ЗАВИСИМОСТЬ КОАГУЛЯЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ КРОВИ КУР IN VITRO ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ

Фомина Л.Л. – канд. биол. наук, доц.; **Березина Д.И.** – канд. биол. наук, доц.; **Кулакова Т.С.** – канд. с-х. наук, доц.; **Моданова К.Э. –** студ.

ФГБОУ ВО «Вологодская государственная молочнохозяйственная академия им. Н.В. Верещагина»

*fomina.l.l@2.molochnoe.ru

Ключевые слова: *куры, гемостаз, коагулограмма, гипертермия, гипотермия*
Key words: *hens, hemostasis, coagulogram, hyperthermia, hypothermia*

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда № 23-26-00115, https://rscf.ru/project/23-26-00115/.

Поступила: 15.04.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

В работе представлены результаты исследования влияния температуры инкубации плазмы крови на показатели гемостаза кур. Целью данной работы стало изучение коагуляционных показателей крови кур при гипо-, нормо- и гипертермии in vitro, а также оценка возможности применения коагулометра для характеристики активности гемостаза и использования гемостатических реакций кур в качестве моделей для медицины человека. Исследование проведено в Вологодской области. Анализировали следующие параметры коагулограммы: тромбиновое время (ТВ), протромбиновое временя (ПВ), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), активность фибриногена и антитромбина III (АТ-III). Установлено, что при 46°С происходит активация свертывания крови, в клоттинговых методах проявляющаяся как ускорение ТВ на 29% (13 сек), ПВ на 72% (111 сек), снижение активности Антитромбина III на 6% (1,5 сек) по сравнению с нормотермией. В то же время на гипотермию (18°С) показатели вторичного гемостаза отвечали также гиперкоагуляцией – ускорение ПВ на 81% (125 сек), повышение активности фибриногена на 77% (84 сек) и снижение активности АТ-III на 55% (14 сек), за исключением тромбинового времени, которое удлинилось на 70% (104 сек). Достоверных изменений АЧТВ при разных температурах не отмечалось. Корреляционно-регрессионный и однофакторный дисперсионный анализ выявили высокую зависимость от температуры ТВ и активности фибриногена, коэффициент детерминации которых составил 71% и 39% соответственно. Измерения активности плазменного гемостаза, проведенные на коагулометре (при 37 °С), не имели достоверных отличий от показателей, измеренных при 43°С, за исключением протромбинового времени, значение которого на 71,51 сек (47 %) было короче измеренного при 43°С.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Племенная работа селекционно-генетических компаний в отрасли птицеводства России в настоящее время направлена на активное восстановление отечественного племенного птицеводства и улучшение продуктивных качеств домашней птицы [1, 2], что невозможно без изменения системного метаболизма, включая гемостаз [3].

Нарушения гемостаза – распространенная патология в птицеводстве, проявляющаяся кровотечением, которое чаще всего возникает в мышцах, внутримышечном жире, соединительной ткани и внутренних органах. Так называемый «геморрагический синдром», наблюдаемый у растущих цыплят, характеризуется подкожными кровоизлияниями, иногда анемией и бледностью костного мозга. Этиология синдрома не получила удовлетворительного объяснения. Некоторые ранние полевые случаи, вероятно, были результатом дефицита витамина К или неразумного использования кокцидиостатических сульфаниламидов, таких как сульфахиноксалин [4]. Диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС) развивающееся вследствие патологической активации свертывающей системы крови в результате инфекций, вызванных эндотоксинами, экспрессируемыми грамотрицательными и грамположительными бактериями, вирусами, простейшими и паразитами, приводит к образованию внутрисосудистых тромбов, в том числе и у птиц [5].

Физиологические механизмы гемостаза у птиц остаются малоизученными, однако считается, что свертывание крови регулируется внешним тканевым фактор-зависимым путем, при этом часть остаточного внутреннего пути выполняет вспомогательную функцию, поскольку у птиц отсутствуют контактные факторы каскада свертывания XI и XII [3].

Активация протромбина и антитромбина (основного серпинового ингибитора свертывания крови) у птиц происходит аналогично млекопитающим [6], но существующие различия в белках свертывающей системы исследователи связывают с генетическим отбором домашней птицы [7] и использованием для диагностики невидоспецифичных реагентов [8]. Помимо видоспецифичности реагентов проблемой диагностики нарушения гемостаза у животных и птиц является использование в ветеринарной медицине методик, пришедших из гуманной медицины (человека) и рассчитанных на температуру протекания биохимических процессов в организме человека без учета различных термобиологических статусов позвоночных, которых зачастую используют в качестве моделей для гемостазиологических реакций [9,10,11].

Исследование влияния температурного фактора на коагуляционную активность крови у кур актуально по нескольким причинам: во-первых, в целях адаптации существующих скрининговых тестов, созданных в гуманной медицине; во -вторых, с целью уточнения знаний о лабильности коагуляционного ответа кур в ответ на гипо- и гипертермию.

В связи с этим, цель нашей работы – анализ реакции плазменного гемостаза кур на крайне низкие и высокие температуры инкубации плазмы и сравнение показателей гемостаза кур, полученных при 37 °С (температуре, при которой проводятся исследования клоттинговыми методами) и при температуре «сердцевины» тела, свойственной курам (43°С) с оценкой возможности использования данных позвоночных в качестве гемостатических моделей.

Научная новизна – получены новые знания о функционировании плазменного гемостаза кур в условиях высоких и низких температур, показана необходимость применения ветеринарного коагулометра для оценки их коагулогических реакций.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIAL AND METHODS

В исследовании использовали кровь 19 здоровых особей домашней курицы (*Gallus gallus* Linnaeus, 1758), породы Род -Айленд красная, кросс Хайсекс Браун, принадлежащих СХПК «Племптица-Можайское». Возраст кур-несушек составил 2 года, вес – 1900г. Птица содержа-

лась в четырехъярусных клетках, производства компании «VALLI». Кормление осуществлялось сухими полнорационными комбикормами ПК-1.

Отбор проб крови проводился в стеклянные пробирки, содержащие 3,8% раствор цитрата натрия в соотношении 1:9 у птиц пункцией подкрыльцовой вены. Объектом исследования являлась бедная тромбоцитами плазма, полученная в результате центрифугирования крови при 3000 оборотов в минуту в течение 20 мин.

Для оценки состояния плазменно-коагуляционного гемостаза определяли следующие показатели: АЧТВ (активированное частичное тромбопластиновое время), ПВ (протромбиновое время), ТВ (тромбиновое время), анализ активности фибриногена при температуре 37°С на коагулометре «Thrombostat» производства Behnk Elektronik (Германия) и мануально с использованием термостата медицинского водяного, серии TW: TW-2 (ELMI TW-2) при температурах 18°С, 43° С, 46°С.

Антикоагулянтные свойства крови оценивали по активности Антитромбина III, которую тестировали по скорости инактивации тромбина в плазме крови, подвергнутой тепловому дефибринированию. Исследование проводили при температурах 18°С, 37°С, 43°С, 46°С. Поскольку эксперимент проводился in vitro, это позволило значительно понизить температуру для модели гипотермии и повысить в модели гипертермии для более яркой клоттинговой реакции, которую можно определить мануальным способом. Были использованы медицинские наборы: «Тромбо-тест», «Техпластин-тест», «АПТВ-тест», «Хромотех-Антитромбин» (ООО Технология-Стандарт, Россия) и для измерения активности фибриногена (НПО РЕНАМ, Россия). Все исследования проводились в соответствии с инструкциями к реагентам.

Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего (M±m). Нормальность распределения оценивали при помощи критерия Шапиро-Уилка. Для оценки достоверности различий параметров при разных температурах в парных зависимых выборках использовали критерий Вилкоксона. Проверка статистической значимости коэффициентов корреляции осуществлялась с помощью статистического критерия Фишера (F-критерий) (однофакторный дисперсионный анализ, One-way ANOVA).

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда № 23-26-00115, https://rscf.ru/project/23-26-00115/.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате изменения температуры инкубации плазмы были получены показатели активности свертывающего и противосвертывающего звена гемостаза кур представленные в таблице 1.

При гипертермии (46°С) по сравнению с нормотермией для кур (43°С) на 29% сократилось тромбиновое время (ТВ), на 72% протромбиновое время (ПВ), на 6% снизилась активность противосвертывающей системы и более чем в три раза снизилась активность фибриногена.

При гипотермии (18 °С) изменение активности свертывающего звена системы гемостаза происходило в противоположном направлении: удлинение ТВ на 104 сек (70%) и повышение активности фибриногена на 84 сек (77%), но в то же время активность антитромбина и протромбиновое время менялись аналогично показателям, измеренным при высокой температуре инкубации плазмы – снизилась активность антитромбина на 14 сек (55%), протромбиновое время сократилось на 125,31 сек (81%) по сравнению с нормотермией. Характеризуя активность внутреннего (плазменного) пути свертывания крови, можно отметить отсутствие достоверных изменений АЧТВ при разных температурах.

Измерения активности плазменного гемостаза, проведенные на коагулометре (при 37 °С), не имели достоверных отличий от показателей, измеренных при 43° С, за исключением протромбинового времени, значение которого на 71,51 сек (47 %) было короче измеренного при 43°С.

Таблица 1 – Сравнительный анализ показателей гемостаза кур при разных температурах

Показатель (n=19)	Температура, °С			
	18	37	43	46
ТВ, с	149,97±11,32^{cdf}	46,39±1,74^{a}	45,52±1,64^{a}	32,43±3,65^{a}
ПВ, с	29,33±6,37^{cd}	83,13±15,36^{adf}	154,64±41,71^{acf}	43,71±13,99^{cd}
АЧТВ, с	84,72±15,23	64,56±7,67	78,82±12,41	86,86±17,56
Фибриноген, с	25,35±4,99^{cdf}	93,88±9,75^{af}	109,15±11,27^{af}	395,60±32,99^{acd}
Антитромбин, с	11,81±2,62^{cdf}	30,70±2,48^{a}	26,02±1,70^{a}	24,46±2,08^{a}

Примечание.^{a}Различия с аналогичным параметром при 18°С достоверны (p≤0,05)
^{c}Различия с аналогичным параметром при 37°С достоверны (p≤0,05)
^{d}Различия с аналогичным параметром при 43°С достоверны (p≤0,05)
^{f} Различия с аналогичным параметром при 46°С достоверны (p≤0,05)

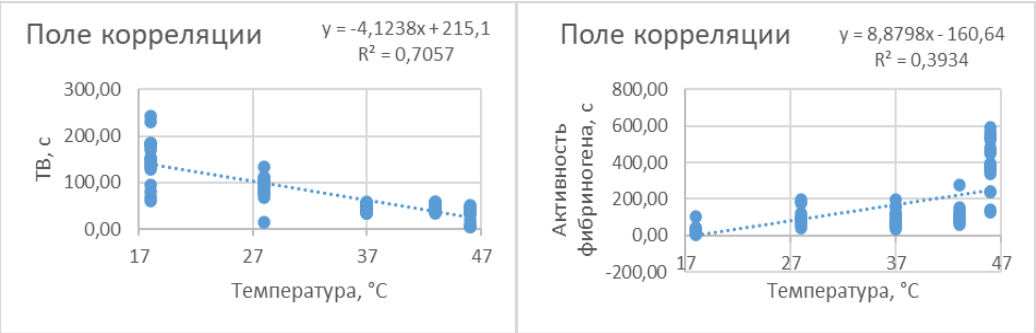


Рисунок 1 – Корреляционно-регрессионная зависимость ТВ и активности фибриногена плазмы кур от температуры инкубации

Таблица 2 – Коэффициенты выявленных корреляций и параметры дисперсионного анализа данных зависимости плазменного гемостаза кур от температуры

Факторная переменная X	Зависимая переменная Y	R	F	Значимость F
Температура, °С	ТВ, с	-0,8	59,58312	p<0,01
	ПВ, с	-0,1	5,817481	p<0,01
	АЧТВ, с	-0,2	10,81306	p<0,01
	Фибриноген, с	0,8	66,58329	p<0,01
	АТ-III, с	0,2	18,57262	p<0,01

Примечание: R - индекс корреляции; F - расчетное значение F-критерия

Корреляционно-регрессионный и однофакторный дисперсионный анализ (One -way ANOVA) выявили высокую зависимость от температуры ТВ и активности фибриногена, коэффициент детерминации которых составил 71% и 39% соответственно (рис. 1).

В соответствии со шкалой Чеддока корреляционную связь между показателями гемостаза и температурным фактором можно охарактеризовать как отрицательную высокую (ТВ) и положительную высокую (фибриноген) (табл.2).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В литературе существуют противоположные точки зрения на активность системы гемостаза у птиц. Иванов А.А. с соавторами (2022) считают, что у птиц отмечается повышенная свертываемость крови, обусловленная каскадным процессом изменения физико-химических свойств белка плазмы фибриногена, а иностранные авторы заключают, что кровь у большинства птиц свертывается медленно и отмечают продолжительные ПВ, ТВ и АЧТВ [13]. Наше исследование подтверждает низкую активность свертывающего звена гемостаза кур по сравнению с млекопитающими [13,14], но в то же время при повышении температуры инкубации плазмы коагуляционный гемостаз ускоряется по показателям, характеризующим внешний и общий путь свертывания, что подтверждается высокой степенью корреляции тромбинового времени с температурой и требует учета температурного фактора [15]. Таким образом, показатели, полученные исследователями при использовании медицинских наборов и коагулометров (37°С) не совсем точно отражают гемостатические процессы, происходящие в организме кур.

Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), показатель характеризующий активность внутреннего (плазменного) пути свертывания крови, выявляющий исключительно плазменные дефекты активации Х-фактора у млекопитающих [16], у кур является более продолжительным, так как у птиц отсутствуют контактные факторы каскада свертывания XI и XII [3]. В нашем исследовании АЧТВ достоверно не зависел от температуры инкубации плазмы, что делает внутренний путь активации гемостаза кур подходящим для использования в качестве модельного.

Реакция активности фибриногена и антитромбина у кур на гипо- и гипертермию сильно отличается от происходящего в организме млекопитающих, у которых при гипотермии происходит активация противосвертывающей системы и ингибирование фибриногена [17,18].

В нашем исследовании в системе гемостаза у кур происходили обратные процессы – при гипотермии активировался фибриноген и снижалась активность антитромбина, при гипертермии происходило ингибирование активности фибриногена, что, возможно, является компенсаторными процессами на реакцию общего пути свертывания, характеризуемого ТВ.

Анализируя полученные результаты можно заключить, что большая часть показателей, характеризующих плазменный гемостаз кур, ярко реагирует на изменение температуры инкубации, особенно на гипотермию, поэтому оптимизация диагностических процедур и определение референтных значений показателей свертываемости крови у птиц при температуре, свойственной этим позвоночным, могут улучшить диагностику нарушений гемостаза. Мы согласны с M. Buzala с соавторами (2017), что процессы свертывания крови глубоко заложены в геноме современной домашней птицы, и поэтому признание механизмов гемостаза и улучшение диагностических процедур могут стать очень мощным инструментом генетического отбора.

DEPENDENCE OF BLOOD COAGULATION ACTIVITY ON TEMPERATURE IN HENS IN VITRO

Fomina L.L. – candidate of Science (Biology), aassociate pprofessor; **Berezina D.I.** – candidate of Science (Biology), aassociate professor; **Kulakova T.S.** – Candidate of Science (Agriculture), Associate Professor; **Modanova K.E.** – student

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Vologda State Dairy Farming Academy named after N.V. Vereshchagin»

*fomina.l.l@2.molochnoe.ru

The research was financially supported by the Russian Science Foundation (Grant No. 23-26-00115), https://rscf.ru/project/23-26-00115/

ABSTRACT

The paper presents the results of examine the relationship between blood plasma incubation temperature and the hemostasis parameters in chickens. The purpose of this research was to study of the blood coagulation parameters in chickens during hypo-, normo- and hyperthermia in vitro. In addition, to assess the possibility of using a coagulometer to identify hemostasis activity and the use of hemostatic reactions in chickens as models for human medicine. The Vologda region was where the study was conducted. The coagulogram was examined for the following parameters: thrombin time (TT), prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), fibrinogen activity, and antithrombin III activity (AT-III). It was found that at 46° C activation of blood clotting occurs, manifested as an acceleration of the TT by 29% (13 seconds), PT by 72% (111 seconds), and decrease in the antithrombin III activity by 6% (1.5 seconds) compared to normothermia. The parameters of secondary hemostasis also responded to hypothermia (18 °C) with hypercoagulation. It was an acceleration of PT of 81% (125 sec), an increase in fibrinogen activity by 77% (84 sec) and a decrease in AT-III activity by 55% (14 sec), with the exception of thrombin time, which was extended by 70% (104 seconds). There were no significant changes in the APTT at different temperatures. The correlation-regression and one-factor analysis of variance revealed a significant correlation between the temperature and the TT and the fibrinogen activity, where the coefficients of determination for which were 71% and 39%, respectively. Plasma hemostasis activity measured on a coagulometer (at 37 °C) showed no significant differences from those measured at 43 °C, except for prothrombin time, which was 71.51 seconds (47%) less than that measured at 43 °C.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Федорова Е.С., Станишевская О.И., Дементьева Н.Ю. Современное состояние и проблемы племенного птицеводства в России (обзор) // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2020;21(3):217-232. DOI https://doi.org/10.30766/2072-9081.2020.21.3.217-232

2. Уколов П.И., Шараськина О.Г., Чигилинская П.Ю. Особенности репродукции кур в мелких фермерских хозяйствах Северо-Запада России // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. 2021;(4):126-128. DOI https://doi.org/10.52419/issn2072-6023.2021.4.126

3. Buzala M. et al. The mechanism of blood coagulation, its disorders and measurement in poultry // Livestock Science. 2017. T. 195. C. 1-8. DOI http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2016.11.009

4. Avian Physiology. P. D. Sturkie. 1986. P. 516. DOI https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4862-0

5. Asakura H. [Classifying types of DIC: clinical features and animal models]. Rinsho Ketsueki. 2016 Apr;57(4):397-404. Japanese. DOI: 10.11406/rinketsu.57.397. PMID: 27169441.

6. Gentry, P.A. Comparative aspects of blood coagulation //The Veterinary Journal. V. 168. I. 3. 2004. P. 238-251. DOI: https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2003.09.013.

7. Frost CL, Naudé RJ, Muramoto K. Ostrich antithrombin III: kinetics and mechanism of inhibition of ostrich thrombin. Int J Biochem Cell Biol. 2002 Sep;34(9):1164-71. DOI: 10.1016/s1357-2725(02)00037-7. PMID: 12009311.

8. Tentoni, J., Polini, N.N. & Casanave, E.B. Comparative vertebrate fibrinolysis. *Comp Clin Pathol* 19, 225–234 (2010). DOI: https://doi.org/10.1007/s00580-010-0988-3

9. Кузник Б.И. и др. Возрастные особенности системы гемостаза у кур// Тромбоз, гемостаз и реология. №1 (21). 2005. С. 32-36

10. Данилишин Ю.Б. Возрастные особен-

ности иммунитета и гемостаза при гипофизарной недостаточности // Автореф. дис. канд. мед. наук: 14.00.53 - СПб., 2005. -22 с.
11. Кузник Б.И и др. Влияние гипофизэктомии на показатели иммунитета, эритропоэза, свертывания крови и фибринолиза у цыплят и старых кур // Медицинская иммунология. 2004. Т. 6. № 3-5. С. 235-236.
12. Lewis J. H. Comparative hemostasis in vertebrates. Springer Science & Business Media. 2013. P 426.
13. Гнездилова Л.А. Динамика показателей коагуляционного гемостаза коров в разные физиологические периоды в условиях экстенсивного и интенсивного ведения животноводства// Международный вестник ветеринарии. №2. 2022. С. 128-134 DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.128,
14. Баруздина Е.С Информативность показателей системы гемостаза у собак при хирургических операциях// Международный вестник ветеринарии. №3. 2016. С. 107-110
15. Takahira, R.K., Thomazini, C.M., Trentin, T.C., Sartori, J.R. Comparison of homologous and heterologous thromboplastin in avian prothrombin time in two different temperatures // Proceedings of the 63rd Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists and the 47th Annual Meeting of the American Society of Veterinary Clinical Pathology, December 1-5, Seattle, Washington. 2012.
16. Bruchim Y., Kelmer E., Cohen A., Codner C., Segev G., Aroch I. Hemostatic abnormalities in dogs with naturally occurring heatstroke // J Vet Emerg Crit Care (San Antonio). 2017. V.27(3) P.315-324. DOI: 10.1111/vec.12590
17. Xu S, Miao H, Gong L, Feng L, Hou X, Zhou M, Shen H, Chen W. Effects of Different Hypothermia on the Results of Cardiopulmonary Resuscitation in a Cardiac Arrest Rat Model // Dis Markers. 2022. Vol. 1-2. P. 1-11. DOI: 10.1155/2022/2005616
18.Wu J., Yuan W., Li J. et al. Effects of Mild Hypothermia on Cerebral Large and Small Microvessels Blood Flow in a Porcine Model of Cardiac Arrest // Neurocrit Care. 2017. Vol. 27. P. 297–303. DOI: https://doi.org/10.1007/s12028-017-0395-6

REFERENCE

1. Fedorova E.S., Stanishevskaya O.I., Dementieva N.Yu. The current state and problems of breeding poultry farming in Russia (review) // Agrarian science of the Euro-North-East. 2020;21(3):217-232. DOI https://doi.org/10.30766/2072-9081.2020.21.3.217-232
2. Ukolov P.I., Sharaskina O.G., Chigilinskaya P.Yu. Features of reproduction of chickens in small farms of the North-West of Russia // Regulatory and legal regulation in veterinary medicine. 2021;(4):126-128. DOI https://doi.org/10.52419/issn2072-6023.2021.4.126
3.Buzala M. et al. The mechanism of blood coagulation, its disorders and measurement in poultry // Livestock Science. 2017. Vol. 195. pp. 1-8. DOI http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2016.11.009
4.Avian Physiology. P. D. Sturkie. 1986. P. 516. DOI https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4862-0
5.Asakura H. [Classifying types of DIC: clinical features and animal models]. Rinsho Ketsueki. 2016 Apr;57(4):397-404. Japanese. DOI: 10.11406/rinketsu.57.397. PMID: 27169441.
6.Gentry, P.A. Comparative aspects of blood coagulation //The Veterinary Journal. V. 168. I. 3. 2004. P. 238-251. DOI: https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2003.09.013.
7.Frost CL, Naudé RJ, Muramoto K. Ostrich antithrombin III: kinetics and mechanism of inhibition of ostrich thrombin. Int J Biochem Cell Biol. 2002 Sep;34(9):1164-71. DOI: 10.1016/s1357-2725(02)00037-7. PMID: 12009311.
8.Tentoni, J., Polini, N.N. & Casanave, E.B. Comparative vertebrate fibrinolysis. Comp Clin Pathol 19, 225–234 (2010). DOI: https://doi.org/10.1007/s00580-010-0988-3
9. Kuznik B.I. et al. Age-related features of the hemostasis system in chickens// Thrombosis, hemostasis and rheology. No. 1 (21). 2005. pp. 32-36
10. Danilishin Yu.B. Age-related features of

immunity and hemostasis in
pituitary insufficiency // Abstract of the dissertation of the Candidate of Medical Sciences: 14.00.53 - St. Petersburg, 2005. -22 p.
11. Kuznik B. And et al. The effect of hypophysiectomy on immunity, erythropoiesis, blood clotting and fibrinolysis in chickens and old chickens // Medical Immunology. 2004. Vol. 6. No. 3-5. pp. 235-236.
12. Lewis J. H. Comparative hemostasis in vertebrates. Springer Science & Business Media. 2013. P 426.
13. Gnezdilova L.A. Dynamics of indicators of coagulation hemostasis of cows in different physiological periods in conditions of extensive and intensive animal husbandry// International Bulletin of Veterinary Medicine. No.2. 2022. pp. 128-134 DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.128,
14. Baruzdina E.S. Informative value of indicators of the hemostasis system in dogs during surgical operations// International Bulletin of Veterinary Medicine. No.3. 2016. pp. 107-110
15.Takahira, R.K., Thomazini, C.M., Trentin, T.C., Sartori, J.R. Comparison of homologous and heterologous thromboplastin in avian prothrombin time in two different temperatures // Proceedings of the 63rd Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists and the 47th Annual Meeting of the American Society of Veterinary Clinical Pathology, December 1-5, Seattle, Washington. 2012.
16. Bruchim Y., Kelmer E., Cohen A., Codner C., Segev G., Aroch I. Hemostatic abnormalities in dogs with naturally occurring heatstroke // J Vet Emerg Crit Care (San Antonio). 2017. V.27(3) P.315-324. DOI: 10.1111/vec.12590
17.Xu S, Miao H, Gong L, Feng L, Hou X, Zhou M, Shen H, Chen W. Effects of Different Hypothermia on the Results of Cardiopulmonary Resuscitation in a Cardiac Arrest Rat Model // Dis Markers. 2022. Vol. 1-2. P. 1-11. DOI: 10.1155/2022/2005616
18.Wu J., Yuan W., Li J. et al. Effects of Mild Hypothermia on Cerebral Large and Small Microvessels Blood Flow in a Porcine Model of Cardiac Arrest // Neurocrit Care. 2017. Vol. 27. p. 297-303. DOI: https://doi.org/10.1007/s12028-017-0395-6

УДК: (591.434.1 + 619):639.122
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.4.335

ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИИ СТЕНКИ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА СУТОЧНЫХ ПЕРЕПЕЛОВ МЯСНЫХ ПОРОД

Головченко Т.С. [1] *– асп. каф. анатомии и физиологии животных, факультет ветеринарной медицины; **Лемещенко В.В.** [1] – д-р ветеринар. наук, проф. каф. анатомии и физиологии животных, факультет ветеринарной медицины; **Макалиш Т.П.** [2] – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. ЦНИЛ

[1] Институт «Агротехнологическая академия» Федерального государственного автономного учреждения высшего образования «Крымский Федеральный Университет им. В.И. Вернадского»;
[2] Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С. И. Георгиевского Федерального государственного автономного учреждения высшего образования «Крымский Федеральный Университет им. В.И. Вернадского».

*tatjana.minor@rambler.ru

Ключевые слова: *морфология, тонкий кишечник, тканевые компоненты, перепела, мясные породы.*
Key words: *morphology, small intestine, tissue components, quail, meat breeds.*

Поступила: 26.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



Реферат
Морфофункциональный статус аппарата пищеварения, в том числе тонкого кишечника, является определяющим в реализации жизнеобеспечивающих функций как на органном, так и на организменном уровне, что обусловлено не только его участием непосредственно в пищеварении, но и в обеспечении иммуногенеза тканевыми компонентами кишечной стенки. Однако в научной литературе строение стенки кишечника у новорожденных перепелов описано недостаточно полно, отсутствуют сравнительные данные особенностей морфологии тонкого кишечника внутри группы пород, относящихся к мясному направлению. Цель исследования: установить особенности структуры кишечной стенки у суточных перепелов мясных пород. Исследовали породные особенности морфологии тонкого кишечника суточных перепелов мясных пород Фараон, Техасская и Японская по n=4, используя комплекс морфологических методик. Установили, что у суточных перепелов породы Японская превалируют длина и ширина ворсинок, а также количество бокаловидных клеток в двенадцатиперстной и тощей кишках по сравнению с таковыми у перепелов породы Фараон и Техасская, тогда как у перепелов породы Фараон выявили наименьшие значения длины и ширины ворсинок, а также количества бокаловидных клеток. Исключением стала толщина серозной оболочки тощей кишки, которая имеет наибольший показатель у суточных перепелов породы Фараон, а наименьший у перепелов породы Техасская.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Морфофункциональный статус аппарата пищеварения, в том числе тонкого кишечника, является определяющим в реализации жизнеобеспечивающих функций как на органном, так и на организменном уровне, что обусловлено не только его участием непосредственно в пищеварении, но и в обеспечении иммуногенеза тканевыми компонентами кишечной стенки. В современных литературных источниках весьма подробно описана структура тонкого кишечника домашних и диких птиц [2-3, 6]. Авторы доказывают, что толщина слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки цыплят кросса КОББ 500 имеет значение 1462,01±15,47 мкм, тощей - 1283,67±16,34 мкм, в то время как стенка тощей кишки у суточных цыплят-бройлеров достигает лишь 654,01±13,43 мкм. Толщина же стенки двенадцатиперстной кишки у птенцов розового скворца составляет 324,0±14,36 мкм, а у взрослых особей - уже 1015,0±18,01 мкм. [1, 4, 5]. Однако в научной литературе строение стенки кишечника у новорожденных перепелов описано недостаточно полно, отсутствуют сравнительные данные особенностей морфологии тонкого кишечника внутри группы пород, относящихся к мясному направлению.

Цель исследования: установить особенности структуры кишечной стенки у суточных перепелов мясных пород.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METODS

Исследовали перепелов мясных пород: Фараон, Техасская и Японская суточного возраста по n=4. Использовали комплекс методик, включающий в себя анатомическое препарирование, исследование гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, морфометрию с анализом данных в программе Aperio ImageScope v.12.4.6. Цифровые данные обрабатывали статистически в программе STATISTICA 10.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

У суточных перепелов мясных пород структура стенки двенадцатиперстной кишки имеет однотипное строение. Ее слизистая оболочка формирует широкие и высокие ворсинки. В их основе лежит собственная пластинка слизистой оболочки с подслизистой основой, которая содержит кровенаполненые капилляры. Эпителиоциты в двенадцатиперстной кишке имеют цилиндрическую форму, в которых реснитчатая каемка хорошо выражена. Также наблюдается большое количество бокаловидных клеток. В мышечной оболочке стенки двенадцатиперстной кишки преобладает внутренний циркулярный слой, а серозная оболочка состоит из мезотелия на соединительно-тканной пластинке.

Тощая кишка у суточных перепелов мясных пород имеет соответствующее сходство структуры как между породами, так и с двенадцатиперстной кишкой. Слизистая оболочка состоит из ворсинок, они покрыты цилиндрическим эпителием в которых находятся бокаловидные клетки. Крипты тощей кишки не глубокие, хорошо сохранена пролиферативная активность эпителиоцитов. Мышечный слой собственной пластинки слизистой оболочки тощей кишки перепелов мясных пород развит хорошо. Мышечная оболочка тощей кишки средней толщины, внутренний циркулярный слой преобладает над наружным. Под серозной оболочкой кишки перепелов отмечаются проходящие сосуды и нервы.

Подвздошная кишка перепелов мясных пород характеризуется ворсинками ниже по высоте и отсутствием крипт. Отмечается значительно большее количество бокаловидных клеток по сравнению с тощей кишкой. Строение подвздошной кишки не отличается от такового в других отделах тонкого кишечника суточных перепелов.

Толщина стенки двенадцатиперстной кишки у суточных перепелов породы Фараон составляет 665,20±0,8 мкм, у породы Техасская - 921,30±0,37 мкм, что на 38,49% больше, чем у породы Фараон. У перепелов породы Японская толщина стенки равна 1083,00±0,76 мкм, что больше аналогичных показателей перепелов

породы Фараон и Техасская на 62,80% и 17,55%. Толщина слизистой оболочки с подслизистой основой двенадцатиперстной кишки перепелов породы Фараон составляет 635,60±0,46 мкм, а ее толщина у перепелов породы Техасская и Японская имеет значение 819,10±0,81 мкм и 1035,00±0,92 мкм, тем самым у перепелов породы Техасская толщина слизистой оболочки с подслизистой основой больше, чем у перепелов породы Фараон на 28,87%, тогда как у перепелов породы Японская больше, чем у птиц пород Фараон и Техасская - на 55,59% и 26,25%, соответственно. Толщина мышечной оболочки двенадцатиперстной кишки перепелов мясных пород меньше слизистой оболочки: 35,21±0,2 мкм у перепелов породы Фараон, 79,34±0,64 мкм у породы Техасская и 39,67±0,6 мкм у суточных перепелов породы Японская.

Таким образом, у суточных птенцов породы Техасская толщина мышечной оболочки превышает аналогичную у перепелов породы Фараон на 100,00%, а толщина мышечной оболочки перепелов породы Японская больше, чем у Фараон на 12,66%, но на 50,00% меньше аналогичного у породы Техасская. Толщина серозной оболочки двенадцатиперстной кишки у перепелов породы Фараон в суточном возрасте составляет 3,87±0,82 мкм, у перепелов породы Техасская - 3,92±0,28 мкм, что на 1,29% больше, чем у птиц породы Фараон. На ряду с этим у перепелов породы Японская значение толщины серозной оболочки в суточном возрасте равно 3,98±0,71 мкм, тем самым превышает аналогичные значение в сравнении с таковыми у породы Фараон на 2,84% и у породы Техасская на 1,53%.

При исследовании линейных параметров тканевых компонентов тощей кишки суточных перепелов выявили, что птиц породы Фараон в суточном возрасте толщина её стенки составляет 372,40±0,35 мкм, у перепелов породы Техасская 406,40±0,31 мкм, что на 9,12% больше, чем у Фараон. Толщина стенки тощей кишки у птенцов породы Японская равна 480,30±0,89 мкм - это на 28,97% больше, чем у Фараон и на 18,18%, чем у Техасской породы птиц. В отношении толщины слизистой оболочки тощей кишки имеется сходная тенденция линейных параметров. У суточных перепелов породы Фараон она имеет значение 331,40±0,42 мкм, у породы Техасская 360,00±0,36 мкм, а у породы Японская – 427,20±0,41 мкм. У суточных перепелов породы Техасская параметр превышает аналогичный у породы Фараон на 8,63%, а параметр суточных перепелов породы Японская больше такового у Фараон на 28,90% и 18,66% у Техасской. Толщина же мышечной и серозной оболочек у перепелов породы Фараон составляет 40,35±0.21 мкм и 3,95±0,15 мкм. Значения данных параметров у птенцов породы Техасская равны 43,23±0.32 мкм и 3,65±0.12 мкм, тем самым превышая показатель толщины мышечной оболочки по сравнению с вышеописанной породой перепелов на 7,13% и наоборот, уступает ей в показателях толщины слизистой оболочки кишки, а именно на 7,60%. У суточных перепелов породы Японская значение толщины мышечной оболочки тощей кишки равно 53,16±0.34 мкм, что является превалирующим по сравнению с таковым у перепелов породы Фараон на 31,74% и на 22,97% в сравнении с показателями перепелов породы Техасская. Толщина слизистой оболочки тощей кишки у суточных перепелят породы Японская имеют значение 3,56±0,15 мкм - это на 9,88% меньше, чем у породы Фараон и на 2,47%, чем у суточных перепелов породы Техасская, тем самым проявив наименьший показатель в данном параметре.

Толщина стенки подвздошной кишки у перепелов породы Фараон составляет 370,10±0,37 мкм, у суточных перепелов породы Техасская данный параметр равен 433,00±0,84 мкм, а у птенцов породы Японская - 483,00±0,71 мкм, что на 30,50% больше, чем у суточных перепелов породы Фараон и на 11,54%, чем у Техасской. Толщина слизистой оболочки с подслизистой основой у птиц породы Фараон в суточном возрасте достигает 300,30±0,81 мкм, а у перепелов породы

Техасская - 350,80±0,49 мкм, что на 16,81% больше, чем у предыдущей описанной породы птиц. У суточных перепелов породы Японская параметр толщины слизистой оболочки с подслизистой основой равен 388,60±0,54 мкм, тем самым превысив значение толщины на 29,40% по сравнению с аналогичным параметром у перепелов породы Фараон и на 10,77% у Техасской. Толщина мышечной оболочки суточных перепелов породы Фараон составляет 67,78±0,93 мкм, такой же показатель, но у породы Техасская имеет значение 69,36±0,75 мкм, что в свою очередь на 2,33% больше, чем у птиц породы Фараон. У перепелов породы Японская в суточном возрасте данный параметр составляет 103,60±0,97 мкм, что на 52,84% и 49,36% больше, чем у суточных птиц породы Фараон и Техасская. Толщина слизистой оболочки суточных перепелов равна 3,54±0,47 мкм у породы Фараон, 3,65±0,34 мкм у породы Техасская, что на 3,10% больше аналогичной у перепелов породы Фараон, а также 3,71±0,28 мкм у суточных перепелов породы Японская, тем самым их значение становится больше, чем у птенцов породы Фараон на 4,80% и на 1,64%, чем у суточных птиц породы Техасская.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, у суточных перепелов мясных пород структура стенки тонкой кишки характеризуется наличием наиболее выраженной слизистой оболочки с подслизистой основой, менее же развиты мышечная и серозная оболочки. При этом проявляется тенденция к увеличению толщины стенки тонкой кишки и её оболочек у перепелов пород Техасская и Японская в сравнении с птицами породы Японская.

THE SMALL INTESTINES WALL MORPHOLOGY FEATURES OF THE DAY-OLD QUAILS

Golovchenko T. S. [1] – Post-Graduate Student, Chair of Anatomy and Physiology of Animals, **Lemeshenko V. V.** [1] – Dr. Veterinary Sci., Prof., Head, Chair of Anatomy and Physiology of Animals; Director; **Makalish T.P.**[2] – Leading Researcher at the Central Scientific Research Laboratory of the Order of the Red Banner of Labor

[1] Agrotechnological Academy of Federal State Autonomous Educational Institution of Higher

Education "V.I. Vernadsky Crimean Federal University";

[2] Medical Institute named after S. I. Georgievsky of Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "V.I. Vernadsky Crimean Federal University".

*tatjana.minor@rambler.ru

ABSTRACT

The morphofunctional status of the digestive apparatus, including the small intestine, is decisive in the implementation of life-supporting functions both at the organ and at the organizational level, which is due not only to its participation directly in digestion, but also in providing immunogenesis with tissue components of the intestinal wall. However, in the scientific literature, the structure of the intestinal wall in newborn quails is not described fully enough, there are no comparative data on the morphology of the small intestine within the group of breeds belonging to the meat direction. The purpose of the study: to establish the features of the structure of the intestinal wall in diurnal quails of meat breeds. The breed features of the morphology of the small intestine of diurnal quails of the meat breeds Pharaoh, Texas and Japanese by n=4 were studied using a set of morphological techniques. It was found that the length and width of the villi prevail in the diurnal quails of the Japanese breed, as well as the number of goblet cells in the duodenum and jejunum compared with those of the Pharaoh and Texas quails, while the smallest values of the length and width of the villi, as well as the number of goblet cells, were revealed in the Pharaoh quails. The exception was the thickness of the serous membrane of the jejunum, which has the highest index in daily quails of the Pharaoh breed, and the lowest in quails of the Texas breed.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Грозина А. А., Пронин В. В., Дюмин М. С. Морфологическая оценка стенки кишечника цыплят кросса «Кобб 500» на фоне применения антибиотика и пробиотика // Российский ветеринарный журнал. 2014. №4.
2. Лемещенко В. В. Динамика параметров полостей тела перепелов обыкновенных в эксперименте / В. В. Лемещенко, А. В. Мурунова // Известия сельскохозяйственной науки Тавриды. – 2017. – № 11 (174). – С. 78–84.
3. Лемещенко, В. В. Гистологические особенности толстого отдела кишечника птенцов обыкновенного перепела / В. В. Лемещенко, А. В. Мурунова // Актуальные проблемы гистологии, цитологии и эмбриологии: материалы научно-практической конференции, посвященной 60-летию организации кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГрГМУ, Гродно, 22 июня 2018 года. – Гродно: Гродненский государственный медицинский университет, 2018. – С. 75-78.
4. Семак А. Э., Беляева Н. П. Возрастные изменения морфологии двенадцатиперстной кишки и железистого желудка розового скворца (Sturnus roseus) // Вестник ЧГПУ им. И.Я. Яковлева. 2018. №2 (98).
5. Сидорова М. В., Панов В. П., Менькин В. К., Просекова Е. А., Кузнецова А. В. Морфофункциональные особенности кишечника цыплят-бройлеров при использовании пробиотика ветом-1,1 // Известия ТСХА. 2007. №3.
6. Лемещенко В.В., Мурунова А.В. Динамика параметров полости тела перепелов обыкновенных в эксперименте // Известия сельскохозяйственной науки Тавриды. 2017. №11 (174).

REFERENCES

1. Grozina A. A., Pronin V. V., Dyumin M. S. Morphological assessment of the intestinal wall of chickens of the "Cobb 500" cross against the background of the use of an antibiotic and probiotic // Russian Veterinary Journal. 2014. No.4.
2. Lemeshchenko V. V. Dynamics of parameters of body cavities of quails in the experiment / V. V. Lemeshchenko, A.V. Murunova // News of agricultural science of Taurida. – 2017. – № 11 (174). – Pp. 78-84.
3. Lemeshchenko, V. V. Histological features of the large intestine of common quail chicks / V. V. Lemeshchenko, A.V. Murunova // Actual problems of histology, Cytology and embryology: materials of a scientific and practical conference dedicated to the 60th anniversary of the organization of the Department of Histology, Cytology and Embryology of GrSMU, Grodno, June 22, 2018. – Grodno: Grodno State Medical University, 2018. – pp. 75-78.
4. Semak A. E., Belyaeva N. P. Age-related changes in the morphology of the duodenum and glandular stomach
5. Sidorova M. V., Panov V. P., Menkin V. K., Prosekova E. A., Kuznetsova A.V. Morphofunctional features of the intestines of broiler chickens when using probiotic vetom -1,1 // Izvestiya TSKHA. 2007. №3.
6. Lemeshchenko V. V. Dynamics of the parameters of the body cavity of the common quail in the experiment / V. V. Lemeshenko, A. V. Murunova // Bulletin of agricultural science of Taurida. – 2017. – № 11 (174). – P. 78–84.

УДК: 611.137.8: 639.111.4
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.340

АРТЕРИАЛЬНАЯ ВАСКУЛЯРИЗАЦИЯ ТАЗОВОЙ КОНЕЧНОСТИ ПЛОДА СЕВЕРНОГО ОЛЕНЯ

Былинская Д.С. * – канд. ветеринар. наук, доц. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0001-9997-5630); **Хватов В.А.** – канд. ветеринар. наук, доц. каф. анатомии животных (ORCID: 0000-0001-5799-0816).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
* goldberg07@mail.ru

Ключевые слова: *плод, тазовая конечность, артерии, северный олень, наружная подвздошная артерия.*
Key words: *fetus, pelvic limb, arteries, reindeer, external iliac artery.*

Поступила: 07.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Северный олень является представителем отряда парнокопытных, большинство особей обитает на территории Северного полушария. Он является значимым охотничье-промысловым видом, а оленеводство является основной отраслью животноводства в условиях Крайнего Севера. Морфология северного оленя всегда вызывала интерес у исследователей. В разные годы архитектонику сосудистого русла северного оленя изучали многие исследователи [5, 6, 7]. Однако, в доступных источниках литературы мы не встретили данных, касающихся артериального кровоснабжения органов и тканей у плодов северного оленя. В пренатальном периоде развития происходит перестройка органов и тканей, а вместе с ними и сосудистого русла. Цель исследования – изучить артериальную васкуляризацию тазовой конечности у плода северного оленя, дать артериям морфометрическую характеристику. Исследования проводились на 5 плодах северного оленя в возрасте 4,0-4,5 месяцев. Плоды были доставлены на кафедру анатомии животных Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины из оленеводческих хозяйств Республики Саха (Якутия). Плоды добывали после убоя важенок для хозяйственных нужд. В качестве методов исследования были выбраны классические методики: тонкое анатомическое препарирование, морфометрия, фотографирование и вазорентгенография. При исследовании было установлено, что основной артериальной магистралью тазовой конечности у плода северного оленя является наружная подвздошная артерия. Скелетотопия и ангиоархитектоника магистральных артерий тазовой конечности плода северного оленя имеют типичные закономерности, свойственные взрослым животным. Морфометрические параметры артерий согласуются с топографическим положением мышечных групп – большее количество крупных артериальных ветвей отмечается в области бедра. Отмечено наличие коллатерального кровотока в области стопы – сосуды дорсальной и плантарной поверхностей соединяются друг с другом за счет прободающей плюсневой и прободающей заплюсневой артерий, а также в месте слияния осевых и неосевых пальцевых артерий.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Пренатальное развитие животных, отдельных органов и систем организма всегда находится в поле интереса морфологов [1, 2]. Сердечно-сосудистая система является одной из главных интегрирующих систем в организме. Одной из множества ее функций является участие в создании внутренней среды организма, а изучение развития сердечно-сосудистой системы на разных этапах пренатального онтогенез является фундаментом для изучения механизмов образования этой среды [3, 4].

Северный олень является представителем отряда парнокопытных, большинство особей обитает на территории Северного полушария. Он является значимым охотничье-промысловым видом, а оленеводство является основной отраслью животноводства в условиях Крайнего Севера. Морфология северного оленя всегда вызывала интерес у исследователей. В разные годы архитектонику сосудистого русла северного оленя изучали многие исследователи [5, 6, 7]. Однако, в доступных источниках литературы мы не встретили данных, касающихся артериального кровоснабжения органов и тканей у плодов северного оленя. В пренатальном периоде развития происходит перестройка органов и тканей, а вместе с ними и сосудистого русла.

В связи со сказанным выше мы поставили перед собой цель исследования – изучить артериальную васкуляризацию тазовой конечности у плода северного оленя, дать артериям морфометрическую характеристику.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHOD

Исследования проводились на 5 плодах северного оленя в возрасте 4,0-4,5 месяцев. Плоды были доставлены на кафедру анатомии животных Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины из оленеводческих хозяйств Республики Саха (Якутия). Плоды добывали после убоя важенок для хозяйственных нужд. Возраст плодов определяли по хозяйственным записям, а также ориентируясь на результаты исследований по морфометрии костей у плодов северного оленя [8, 9].

В качестве методов исследования были выбраны классические методики: тонкое анатомическое препарирование, морфометрия, фотографирование и вазорентгенография. При проведении последней в качестве рентгеноконтрастной массы использовали массу для инъекций, приготовленную по прописи: 45% - свинцовых белил, 45% - живичного скипидара, 10% - порошка медицинского гипса [10, 11].

Перед инъекцией подготавливали материал: плоды разогревали в течение 2-3 часов на водяной бане при температуре 40-45°С.

Инъекцию рентгеноконтрастной массы проводили через пупочную вену, осуществляя доступ через пупочный канатик, не нарушая целостности тела плода. После инфузии сосудистого русла объекты исследования помещали в 10% раствор формалина на 3-5 суток. Затем проводили тонкое анатомическое препарирование и фотографирование, а также рентгенографию. Морфометрию артерий проводили в компьютерной программе RadiAnt.

При указании анатомических терминов использовали международную ветеринарную анатомическую номенклатуру пятой редакции [12-15].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В ходе исследования было установлено, что у плода северного оленя кровоснабжение органов и тканей тазовой конечности осуществляется за счет наружной подвздошной артерии *(a. iliaca externa)*, которая ответвляется от брюшной аорты на уровне тел последних поясничных позвонков. Она имеет каудовентральное направление и проходит параллельно телу подвздошной кости. Диаметр наружной подвздошной артерии составляет в среднем 1,88±0,12 мм.

До погружения в бедренный канал от основной артериальной магистрали тазовой конечности в краниальном направлении ответвляется мелкая окружная глубо-

кая подвздошная артерия *(a. circumflexa ilium profunda)*, диаметром 0,34±0,02 мм; в каудальном направлении крупная глубокая артерия бедра *(a. profunda femoris)*, диаметром 1,15±0,06 мм. Последняя имеет каудовентрально направление и отдает две крупные ветви: надчревно-срамной ствол и медиальную окружную артерию бедра.

Надчревно-срамной ствол *(truncus pudendoepigastricus)* отходит в краниальном направление и участвует в кровоснабжении мышц брюшной стенки, кожи области промежности, его диаметр составляет в среднем 0,63±0,03 мм.

Медиальная окружная артерия бедра *(a. circumflexa femoris medialis)* отходит в каудомедиальном направлении и участвует в кровоснабжении заднебедренной группы разгибателей тазобедренного сустава и аддукторов тазовой конечности. Её диаметр составляет в среднем 0,98±0,07 мм.

Бедренная артерия *(a. femoralis)* является непосредственным продолжением наружной подвздошной артерии. Она располагается на медиальной поверхности бедренной кости, опускаясь дистально. Диаметр бедренной артерии изменяется в пределах 1,95 мм до 1,44 мм и составляет в среднем 1,61±0,17 мм.

Основная масса мышц тазовой конечности располагается в области бедра, поэтому бедренная артерия отдает многочисленные ветви. Так, для питания четырёхглавой мышцы бедра отходит краниальная артерия бедра (a. femoris cranialis), диаметром 0,42±0,03 мм; для заднебедренной группы разгибателей тазобедренного сустава отходит группа каудальных артерий бедра (aa. femoris caudales), средним диаметром 0,47±0,04 мм; для разгибателей коленного сустава ответвляется окружная латеральная артерия бедра (a. circumflexa femoris lateralis), диаметром 0,47±0,03 мм.

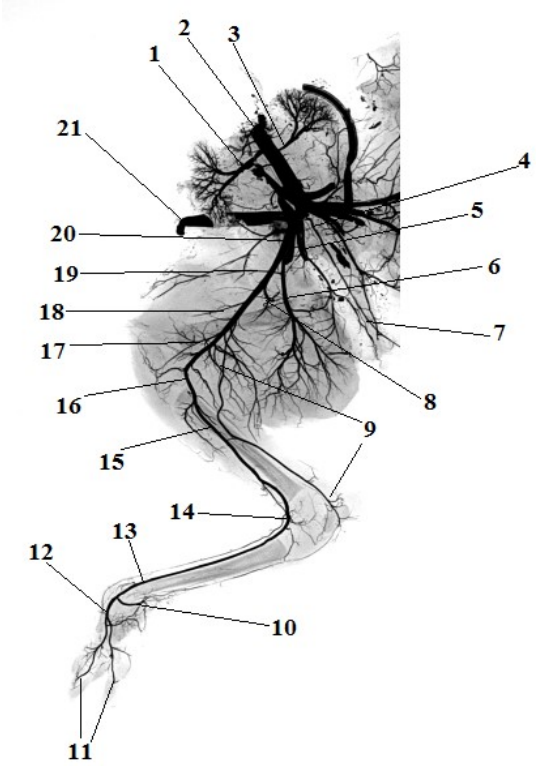


Рисунок 1 – Артерии тазовой конечности плода северного оленя. Вазорентгенограмма, боковая проекция:

1 – правая почечная артерия; 2 – брюшная аорта; 3 – левая почечная артерия; 4 – средняя крестцовая артерия; 5 – внутренняя подвздошная артерия; 6 – глубокая артерия бедра; 7 – средняя хвостовая артерия; 8 – окружная медиальная бедренная артерия; 9 – артерия сафена; 10 – прободающая плюсневая артерия; 11 – осевые пальцевые артерии; 12 – общая дорсальная пальцевая артерия; 13 – III дорсальная плюсневая артерия; 14 – дорсальная артерия стопы; 15 – краниальная большеберцовая артерия; 16 – подколенная артерия; 17 – окружная латеральная артерия бедра; 18 – краниальная бедренная артерия; 19 – надчревно-срамной ствол; 20 – наружная подвздошная артерия; 21 – пупочная артерия.

В области дистальной трети бедра от каудальной поверхности бедренной артерии ответвляется артерия сафена (a. saphena), которая в подколенной области имеет извилистый ход, следует дистально по каудальной поверхности голени. Диаметр артерии сафена неодинаков на всем протяжении: в месте отхождения он равняется 0,51±0,03 мм, в подколенной области – 0,59±0,04 мм, на уровне середины голени 0,66±0,05 мм, на уровне проксимального ряда костей заплюсны 0,44±0,02 мм. Здесь же от нее отходят лодыжковые артерии (aa. malleolares), после чего артерия сафена разделяется на две плантарные артерии, которые продолжаясь дистально дают начало плантарным пальцевым артериям (aa. digitales plantares).

Подколенная артерия (a. popliteal) является продолжением бедренной артерии. Она проходит внутри угла коленного сустава, её диаметр составляет 1,09±0,06 мм. Первоначально подколенная артерия отдает каудальную большеберцовую артерию, диаметром 0,52±0,02 мм и продолжается как краниальная большеберцовая артерия (a. tibialis cranialis), диаметром 1,02±0,06 мм.

На уровне проксимальных эпифизов костей голени от краниальной большеберцовой артерии ответвляются малоберцовая артерия (a. fibularis) и питающая артерия (a. nutricia). На уровне дистальных эпифизов костей голени краниальная большеберцовая артерия отдает ветви на плантарную поверхность заплюсны и плюсны, а сама продолжается как дорсальная артерия стопы (a. dorsalis pedis). Средний диаметр краниальной большеберцовой артерии в дистальной части голени составляет 0,87±0,05 мм.

Дорсальная артерия стопы располагается внутри угла заплюсневого сустава. Ее диаметр составляет 0,78±0,04 мм. На плантарную поверхность заплюсны от дорсальной артерии стопы отходят две прободающие артерии: проксимальная и дистальная (a. tarsea perforans proximalis et distalis).

Третья дорсальная плюсневая артерия (a. metatarsea dorsalis III) является дистальным продолжение дорсальной артерии стопы, её диаметр составляет 0,64±0,02 мм. В области дистального эпифиза плюсневых костей от нее на плантарную поверхность стопы отходит крупная прободающая плюсневая артерия, после чего третья дорсальная плюсневая артерия продолжается как общая дорсальная пальцевая артерия (a. digitalis dorsalis communis). В области пальцев последняя дает начало соответствующим дорсальным пальцевым артериям.

Прободающая плюсневая артерия (a. metatarsea perforans) имеет дугообразный ход, её диаметр в среднем составляет 0,64±0,02 мм. Выходя на плантарную поверхность стопы, прободающая плюсневая артерия вливается в плантарные артерии.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, при исследовании было установлено, что основной артериальной магистралью тазовой конечности у плода северного оленя является наружная подвздошная артерия. Скелетотопия и ангиоархитектоника магистральных артерий тазовой конечности плода северного оленя имеют типичные закономерности, свойственные взрослым животным. Морфометрические параметры артерий согласуются с топографическим положением мышечных групп – большее количество крупных артериальных ветвей отмечается в области бедра. Отмечено наличие коллатерального кровотока в области стопы – сосуды дорсальной и плантарной поверхностей соединяются друг с другом за счет прободающей плюсневой и прободающей заплюсневой артерий, а также в месте слияния осевых и неосевых пальцевых артерий.

ARTERIAL VASCULARIZATION OF THE PELVIC LIMB OF THE REINDEER FETUS

Bylinskaya D. S. * – Candidate of Vet. n., associate professor of the faculty. animal anatomy (ORCID 0000-0001-9997-5630), **Khvatov V. A.** – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department. animal anatomy (ORCID: 0000-0001-5799-0816).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine
* goldberg07@mail.ru

ABSTRACT

The reindeer is a representative of the order artiodactyls, most of the individuals inhabit the territory of the Northern hemisphere. It is a significant hunting and commercial species, and reindeer husbandry is the main branch of animal husbandry in the conditions of the Far North. The morphology of the reindeer has always been of interest to researchers. In different years, the architectonics of the vascular bed of the reindeer have been studied by many researchers [3, 4]. However, in the available literature sources, we have not found data concerning arterial blood supply to organs and tissues in reindeer fetuses. In the prenatal period of development, there is a restructuring of organs and tissues, and with them the vascular bed. The aim of the study was to study the arterial vascularization of the pelvic limb in a reindeer fetus, to give morphometric characteristics to the arteries. The studies were conducted on 5 reindeer fetuses at the age of 4.0-4.5 months. The fruits were delivered to the Department of Animal Anatomy of the St. Petersburg State University of Veterinary Medicine from reindeer herding farms of the Republic of Sakha (Yakutia). The fruits were extracted after the slaughter of vazhenok for household needs. Classical methods were chosen as research methods: fine anatomical dissection, morphometry, photographing and vasorentgenography. During the study, it was found that the main arterial trunk of the pelvic limb in a reindeer fetus is the external iliac artery. Skeletotopy and angioarchitectonics of the main arteries of the pelvic limb of the reindeer fetus have typical patterns characteristic of adult animals. Morphometric parameters of the arteries are consistent with the topographic position of the muscle groups – a greater number of large arterial branches are noted in the hip area. The presence of collateral blood flow in the foot area is noted – the vessels of the dorsal and plantar surfaces are connected to each other due to the perforating metatarsal and perforating metatarsal arteries, as well as at the confluence of the axial and non-axial finger arteries.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Methods for studying the ductus venosus in animals / S. Melnikov, D. Bylinskaya, N. Zelenevskiy [et al.] // FASEB Journal. – 2022. – Vol. 36, No. S1. – P. 3727.

2.Артерии большого круга кровообращения плода кошки / Д. С. Былинская, М. В. Щипакин, Н. В. Зеленевский [и др.] // Ипология и ветеринария. – 2018. – № 3(29). – С. 102-107.

3.Зеленевский, Н. В. Анатомия и физиология сельскохозяйственных животных: Учебник для СПО / Н. В. Зеленевский, М. В. Щипакин, К. Н. Зеленевский. – Санкт-Петербург: Издательство "Лань", 2022. – 448 с.

4.Слесаренко, Н. А. Анатомия интегрирующих систем животных: сердечно-сосудистая, эндокринная и нервная / Н. А. Слесаренко, Г. А. Ветошкина, Е. О. Широкова. – Москва: ООО " ЭйБиЭс", 2017. – 122 с.

5.Кириков К. С., Решетников И. С. Функциональная морфология кровеносных сосудов конечностей северного оленя: – Якутск: Якутия, 2012. – 112 с.

6.Лайшев А. Х. Артерии кисти и стопы северного оленя // Проблемы животноводства и пушного звероводства на Крайнем Севере. – Новосибирск, 1977. – С. 29 –34.

7.Лисовиченко В. А. Артерии кисти северного оленя // Актуальные проблемы ветеринарной медицины. – СПб.: СПбГАВМ, 1999. – С.70–72.

8.Малкова Н.Н., Малков Н.А. Динамика роста костей тазовой конечности северного оленя в плодном онтогенезе / Н.Н. Малкова, Н.А. Малков // Морфологические ведомости - №1-2. – 2008. – с. 189-192.

9.Решетников, И.С. Периоды и закономерности внутриутробного развития северного оленя / И.С. Решетников. – Якутск: Изд-во Якут.гос.ун-та, 1981. – 59 с.

10.Универсальные методики изучения артериальной системы животных / М. В. Щипакин, Ю. Ю. Бартенева, 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.
11.Патент № 2530159 C1 Российская Федерация, МПК A61K 49/04, A01N 1/02. Способ изготовления рентгеноконтрастной массы для вазорентгенографии при посмертных исследованиях животных: № 2013117666/13: заявл. 16.04.2013: опубл. 10.10.2014 / М. В. Щипакин, А. В. Прусаков, Д. С. Былинская, С. А. Куга; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины" (ФГБОУ ВПО СПБГАВМ).
12.Зеленевский, Н. В. Международная ветеринарная анатомическая номенклатура на латинском и русском языках. Nomina Anatomica Veterinaria. (пятая редакция): Учебники для вузов. Специальная литература / Н. В. Зеленевский; пер. и рус. терминология Н. В. Зеленевского. – Санкт-Петербург: Издательство "Лань", 2013. – 400 с.
13.Прусаков, А. В. Кровоснабжение области бедра и голени кролика породы немецкий великан / А. В. Прусаков, Н. В. Зеленевский, М. В. Щипакин [и др.] // Иппология и ветеринария. – 2018. – № 2 (28). – С. 100-103.
14.Стратонов, А. С. Васкуляризация области голени и стопы у свиней пород ландрас и йоркшир в сравнительном аспекте / А. С. Стратонов, М. В. Щипакин // Международный вестник ветеринарии. – 2019. – № 2. – С. 111-115.
15.Щипакин, М. В. Возрастные закономерности васкуляризации органов тазовой конечности и тазовой полости хоря золотистого: специальность 16.00.02: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук / Щипакин Михаил Валентинович. – Санкт-Петербург, 2007. – 17 с.

REFERENCES

1.Methods for studying the ductus venosus in animals / S. Melnikov, D. Bylinskaya, N. Zelenevsky [et al.] // FASEB Journal. 2022:36:1:3727.
2.Arteries of the large circulatory circle of the cat fetus / D. S. Bylinskaya, M. V. Shchipakin, N. V. Zelenevsky [et al.] // Hippology and veterinary medicine. 2018:3 (29):102-107.
3.Zelenevsky, N. V. Anatomy and physiology of farm animals: Textbook for SPO / N. V. Zelenevsky, M. V. Shchipakin, K. N. Zelenevsky. – St. Petersburg: Publishing House "Lan", 2022:448.
4.Slesarenko, N. A. Anatomy of integrating animal systems: cardiovascular, endocrine and nervous / N. A. Slesarenko, G. A. Vetoshkina, E. O. Shirokova. – Moscow: ABIES LLC, 2017:122.
5.Kirikov K. S., Reshetnikov I. S. Functional morphology of blood vessels of reindeer limbs: – Yakutsk: Yakutia, 2012:112.
6.Laishev A. H. Arteries of the hand and foot of the reindeer // Problems of animal husbandry and fur farming in the Far North. – Novosibirsk, 1977. – pp. 29-34.
7.Lisovichenko V. A. Arteries of the reindeer brush // Actual problems of veterinary medicine. – St. Petersburg: SPbGAVM, 1999:70-72.
8.Malkova N.N., Malkov N.A. Dynamics of growth of bones of the pelvic limb of reindeer in fetal ontogenesis / N.N. Malkova, N.A. Malkov // Morphological vedomosti. 2008:1-2:189-192.
9.Reshetnikov, I.S. Periods and patterns of intrauterine development of reindeer / I.S. Reshetnikov. – Yakutsk: Publishing House of the Yakut State University, 1981:59.
10.Universal methods of studying the arterial system of animals / M. V. Shchipakin, Yu.

Yu. Barteneva, D. S. Bylinskaya, D. V. Vasiliev, A. S. Stratonov, V. A. Khvatov // Actual problems of veterinary morphology and higher veterinary education: Proceedings of the National Scientific and Practical Conference with international participation, Moscow, October 14-16, 2019. – Moscow: Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology - MBA named after K.I. Scriabin". 2019:66-70.

11.Patent No. 2530159 C1 Russian Federation, IPC A61K 49/04, A01N 1/02. Method of manufacturing radiopaque mass for vasorentgenography in postmortem studies of animals: No. 2013117666/13: application 16.04.2013: publ. 10.10.2014 / M. V. Shchipakin, A.V. Prusakov, D. S. Bylinskaya, S. A. Kuga; applicant Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education "St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine" (FGBOU VPO SPBGAVM).

12.Zelenevsky, N. V. International veterinary anatomical nomenclature in Latin and Russian. Nomina Anatomica Veterinaria. (fifth edition): Textbooks for universities. Special literature / N. V. Zelenevsky; trans. and Russian terminology of N. V. Zelenevsky. – St. Petersburg: Publishing House "Lan", 2013:400.

13.Prusakov, A.V. Blood supply to the thigh and lower leg of a German giant rabbit / A.V. Prusakov, N. V. Zelenevsky, M. V. Shchipakin [et al.] // Hippology and veterinary medicine. 2018:2(28):100-103.

14.Stratonov, A. S. Vascularization of the shin and foot area in pigs of Landrace and Yorkshire breeds in a comparative aspect / A. S. Stratonov, M. V. Shchipakin // International Bulletin of Veterinary Medicine. 2019:2:111-115.

15.Shchipakin, M. V. Age-related patterns of vascularization of pelvic limb organs and pelvic cavity of the golden horus: specialty 16.00.02: abstract of the dissertation for the degree of Candidate of Veterinary Sciences / Shchipakin Mikhail Valentinovich. – St. Petersburg, 2007:17.

УДК: 611.423: 611.317: 599.735.52
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.347

ЛИМФАТИЧЕСКОЕ РУСЛО РОТОВОЙ ПОЛОСТИ У ОВЕЦ ЭДИЛЬБАЕВСКОЙ ПОРОДЫ

Мельников С.И. * – канд. ветеринар. наук, асс. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0002-0963-8751); **Васильев Д.В.** – канд. ветеринар. наук, доц. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0002-9496-6433).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* seeer_good97@mail.ru

Ключевые слова: *лимфатическая система, овца, ротовая полость, сосуды, узел, губы.*

Key words: *lymphatic system, sheep, oral cavity, vessels, node, lips.*

Поступила: 25.09.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Изучение лимфатической системы представляет интерес не только для морфологии, но и для физиологии и патологии, так как именно в органах и тканях, где располагаются лимфатические капилляры, происходит обмен веществ. Лимфатическое русло представлено интрамуральными сосудами, регионарными лимфатическими узлами первого, второго порядка. Цель исследования – определить лимфатические узлы и сосуды, принимающие участие в лимфооттоке от области губ у овец эдильбаевской породы. Исследование проводили на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Материалом послужили овцы эдильбаевской породы в количестве пяти штук в возрасте один год. В качестве методов использовали внутритканевую (интерстициальную) инъекцию с котнрастными массами в виде синей массы Герота, которую готовили растиранием 2,0 г. синей масляной краски в 30,0 г. живичного скипидара. Полученную массу смешивали с 15,0 г. эфира и пропускали через фильтр. Перед инъекцией голову овец на несколько часов помещали в теплую воду. Инъекцию осуществляют шприцем с тонкими иглами. Контрастные массы вводили очень медленно, осторожно массируя инъецируемый участок. В результате нашего исследования мы пришли к выводу, что, направление магистральных лимфатических сосудов верхней губы и краев носового отверстия соответствует линии, проведенной от угла губ к нижнечелюстному суставу; направление отводящих лимфатических сосудов нижней губы соответствует направлению свободного края нижней челюсти; основными регионарными лимфатическими узлами для отводящих лимфатических сосудов губ овцы эдильбаевской породы являются околоушный и нижнечелюстной и, в единичных случаях, латеральный заглоточный.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Изучение лимфатической системы представляет интерес не только для морфологии, но и для физиологии и патологии, так как именно в органах и тканях, где располагаются лимфатические капилляры, происходит обмен веществ. Лимфатическое русло представлено интрамуральными сосудами, регионарными лимфатическими узлами первого, второго порядка. Лимфатические капилляры и сосуды располагаются в междольковой соединительной ткани. Поэтому раскрытие закономерностей структурной организации лимфатических узлов в физиологической динамике, анализ адаптационных ее перестроек, обеспечивающих ее прогрессивное и регрессивное развитие – одна из актуальных проблем фундаментальной и прикладной биологии. Лимфатическая система представляет собой специализированный дренажный отдел сердечно-сосудистой системы, коллатеральный к венам. В доступной нам литературе мы не встретили полного описания лимфатической системы головы и, в частности, области губ у овец эдильбаевской породы. Цель исследования – определить лимфатические узлы и сосуды, принимающие участие в лимфооттоке от области губ у овец эдильбаевской породы [1-8].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHOD

Исследование проводили на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Трупный материал для исследования был доставлен на кафедру анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» из частных фермерских хозяйств Ленинградской области. Материалом послужили овцы эдильбаевской породы в количестве пяти штук в возрасте один год. В качестве методов использовали внутритканевую (интерстициальную) инъекцию с котнрастными массами в виде синей массы Герота, которую готовили растиранием 2,0 г. синей масляной краски в 30,0 г. живичного скипидара. Полученную массу смешивали с 15,0 г. эфира и пропускали через фильтр. Перед инъекцией голову овец на несколько часов помещали в теплую воду. Инъекцию осуществляют шприцем с тонкими иглами. Контрастные массы вводили очень медленно, осторожно массируя инъецируемый участок [9-12].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате исследования мы установили, что отводящие лимфатические сосуды губ у овец эдильбаевской породы делятся на поверхностные, начинающиеся от подкожного слоя, и глубокие – от слизистой оболочки и толщи губ.

От подкожной капиллярной лимфатической сети на уровне угла губ формируются один-два поверхностных лимфатических сосуда верхней губы. Вначале лимфатические сосуды располагаются в подкожной клетчатке по наружной поверхности скуловой мышцы или дорсальнее от нее на уровне первого моляра пересекают лицевую вену, после чего идут назад к нижнечелюстному суставу по наружной поверхности жевательной мышцы и впадают в околоушный лимфатический узел.

От глубокой капиллярной лимфатической сети на уровне угла губ формируются четыре-пять глубоких магистральных лимфатических сосуда верхней губы. Вначале лимфатические сосуды расположены компактно и параллельно друг другу в рыхлой клетчатке под и над поднимателем верхней губы, сопровождают поперечную лицевую артерию. Далее они расположены под скуловой мышцей на уровне первого-второго моляра, пересекая лицевую вену и выходя на наружную поверхность жевательной мышцы. Глубокие лимфатические сосуды после пересечения лицевой вены резко поворачивают вентрально и, сопровождая последнюю, впадают в нижнечелюстной лимфатический узел.

Подкожная капиллярная лимфатическая сеть нижней губы формирует одиндва поверхностных лимфатических сосуда. Они расположены на поверхностной фасции головы над щечной мышцей, пе-

ресекающей лицевую вену, и выходят на наружную поверхность жевательной мышцы, впадая в околоушный лимфатический узел. Отмечено, что данные сосуды доходят до лицевой вены, опускаются вниз и вливаются в нижнечелюстной лимфатический узел.

От подслизистой капиллярной лимфатической сети нижней губы формируются до четырех глубоких лимфатических сосуда. Вначале данные сосуды идут пучком по нижнему краю опускателя нижней губы и частично под вентральной щечной слюнной железой по ходу вентрального щечного нерва. Сосуды на уровне сосудистой вырезки нижнечелюстной кости опускается вниз и впадает в нижнечелюстной лимфатический узел.

Околоушной лимфатический узел (ln. parotideus) – расположен вентрально от нижнечелюстного сустава, его длина составляет в среднем – 3,50±0,35 см, ширина – 1,60±0,15 см, толщина – 0,45±0,10 см. Наружная часть узла прикрыта кожей и фасцией, внутренняя часть – вентральной ушной мышцей, которая заключена в околоушную фасцию. Форма околоушного лимфатического узла бобовидной или овальной формы. Отток лимфы из него идет в заглоточный латеральный лимфатический узел.

Нижнечелюстной лимфатический узел (ln. mandibularis) – в среднем имеет длину – 2,65±0,25 см, его ширина – 0,70±0,10 см, а толщина – 0,43±0,05 см. Он расположен в межчелюстной области позади сосудистой вырезки нижнечелюстной кости над наружной челюстной веной. Снаружи он прикрыт кожей и фасцией. Форма узла овальная. Отток лимфы из него идет в заглоточный латеральный лимфатический узел.

Заглоточный латеральный лимфатический узел (ln. retropharyngei lateralis) – в среднем его длина составляет – 2,20±0,20 см, ширина – 1,55±0,15 см, толщина – 0,65±0,06 см. Он расположен спереди крыла атланта, под каудальным краем околоушной железы. Форма узла овальная. Отток лимфы из него идет в трахеальный проток.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате нашего исследования мы пришли к выводу, что, направление магистральных лимфатических сосудов верхней губы и краев носового отверстия соответствует линии, проведенной от угла губ к нижнечелюстному суставу; направление отводящих лимфатических сосудов нижней губы соответствует направлению свободного края нижней челюсти; основными регионарными лимфатическими узлами для отводящих лимфатических сосудов губ овцы эдильбаевской породы являются околоушный и нижнечелюстной и, в единичных случаях, латеральный заглоточный.

THE LYMPHATIC CHANNEL OF THE ORAL CAVITY IN SHEEP OF THE EDILBAEV BREED

Melnikov S. I. * Candidate of Vet. n., ass. kaf. animal anatomy (ORCID 0000-0002-0963-8751), **Vasiliev D. V.** – Candidate of Veterinary Sciences, Assoc. kaf. Animal Anatomy (ORCID 0000-0002-9496-6433)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*seeer_good97@mail.ru

ABSTRACT

The study of the lymphatic system is of interest not only for morphology, but also for physiology and pathology, since it is in the organs and tissues where the lymphatic capillaries are located that metabolism occurs. The lymphatic bed is represented by intramural vessels, regional lymph nodes of the first and second order. The aim of the study was to determine the lymph nodes and vessels involved in the lymph outflow from the lip area in sheep of the Edilbaev breed. The study was conducted at the Department of Animal Anatomy of the St. Petersburg State University of Veterinary Medicine. The material was sheep of the Edilbaevsky breed in the amount of five pieces at the age of one year. As methods, an interstitial (interstitial) injection with cotrust masses in the form of a blue mass of Gerot was used, which was prepared by rubbing 2.0 g of blue oil paint in 30.0 g of gum turpentine. The resulting mass

was mixed with 15.0 g of ether and passed through a filter. Before the injection, the sheep's head was placed in warm water for several hours. The injection is carried out with a syringe with thin needles. Contrast masses were injected very slowly, gently massaging the injected area. As a result of our research, we came to the conclusion that the direction of the main lymphatic vessels of the upper lip and the edges of the nasal opening corresponds to the line drawn from the corner of the lips to the mandibular joint; the direction of the diverting lymphatic vessels of the lower lip corresponds to the direction of the free edge of the lower jaw; the main regional lymph nodes for the diverting lymphatic vessels of the lips of the sheep of the Edilbaev breed are the parotid and mandibular and, in isolated cases, the lateral pharyngeal.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Зеленевский, Н. В. Анатомия и физиология сельскохозяйственных животных: Учебник для СПО / Н. В. Зеленевский, М. В. Щипакин, К. Н. Зеленевский. – Санкт-Петербург: Издательство "Лань", 2022. – 448 с. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=48412319

2. Васильев, Д. В. Рентгенографическое исследование грудного лимфатического протока кошки домашней / Д. В. Васильев, К. Н. Зеленевский, Н. В. Зеленевский [и др.] // Иппология и ветеринария. – 2018. – № 4(30). – С. 132-134. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=37633036

3. Anatomical and topographic features of lymphatic outflow of the heart in an Anglo-Nubian / S. Melnikov, M. Shchipakin, N. Zelenevskiy [et al.] // FASEB Journal. – 2022. – Vol. 36, No. S1. – P. 3120. – DOI 10.1096/fasebj.2022.36. S1.R3120. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=48544692

4. Хватов, В. А. Отток лимфы от сердца козы / В. А. Хватов // Актуальные вопросы ветеринарной медицины : материалы международной научной конференции, посвященной 100-летию кафедр клинической диагностики, внутренних болезней животных им. Синева А.В., акушерства и оперативной хирургии, Санкт-Петербург, 29–30 сентября 2022 года /. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2022. – С. 141-143. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=50059997

5. Topography and blood supply to the mandibular lymph node of the Baikal seal (Pusa sibirica Gmelin, 1788) in ontogenesis / S. A. Sayvanova, N. I. Ryadinskaya, I. V. Anikienko, O. P. Ilyina // Limnology and Freshwater Biology. – 2020. – No. 4. – P. 814-815. – DOI 10.31951/2658-3518-2020-A-4-814. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=44423026

6. Рядинская, Н. И. Анатомия и физиология органов иммунной системы у животных: электронное учебное пособие для вузов: специальности 111801 "Ветеринария" и направления – 111900 "Ветсанэкспертиза" – 111400 "Зоотехния" / Н. И. Рядинская, А. И. Афанасьева. – Барнаул: Алтайский государственный аграрный университет, 2013. – 50 с. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=46169525

7. Щипакин, М. В. Гистогенез лимфатических узлов вымени коз зааненской породы / М. В. Щипакин // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2014. – Т. 218, № 2. – С. 335-340. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=21611465

8. Зайцева, Е. Д. Анатомо-топографические особенности лимфатических узлов легких молодняка овец романовской породы / Е. Д. Зайцева, М. В. Щипакин // Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны : материалы XI международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, Санкт-Петербург, 24–25 ноября 2022 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2022. – С. 168-169. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=50201141

9. Руководство по препарированию и из-

готовлению анатомических препаратов / Н. И. Гончаров, Л. С. Сперанский, А. И. Краюшкин, С. В. Дмитриенко. – Новгород: Нижегородская государственная медицинская академия, 2002. – 192 с. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=23511842

10. Былинская, Д. С. Методика двухсторонней ангиографии органов головы, головного мозга и шеи животных / Д. С. Былинская, М. В. Щипакин, Ю. Ю. Бартенева, 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. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=42279593

11. Панфилов, А. Б. Лимфоидная ткань стенки толстой кишки волка - canis lupus / А. Б. Панфилов, Н. В. Зеленевский, М. В. Щипакин [и др.] // Медицинская иммунология. – 2017. – Т. 19, № S. – С. 426. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=29758461

12. Патент № 2530159 C1 Российская Федерация, МПК A61K 49/04, A01N 1/02. Способ изготовления рентгеноконтрастной массы для вазорентгенографии при посмертных исследованиях животных: № 2013117666/13: заявл. 16.04.2013: опубл. 10.10.2014 / М. В. Щипакин, А. В. Прусаков, Д. С. Былинская, С. А. Куга; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины" (ФГБОУ ВПО СПБГАВМ). Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=37453806

REFERENCES

1. Zelenevsky, N. V. Anatomy and physiology of farm animals: Textbook for SPO / N. V. Zelenevsky, M. V. Shchipakin, K. N. Zelenevsky. – St. Petersburg: Publishing House "Lan", 2022:448. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=48412319

2. Vasiliev, D. V. Radiographic examination of the thoracic lymphatic duct of a domestic cat / D. V. Vasiliev, K. N. Zelenevsky, N. V. Zelenevsky [et al.] // Hippology and veterinary medicine. 2018:4(30):132-134. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=37633036

3. Anatomical and topographic features of lymphatic outflow of the heart in an Anglo-Nubian / S. Melnikov, M. Shchipakin, N. Zelenevskiy [et al.] // FASEB Journal. 2022:36:S1:3120. – DOI 10.1096/fasebj.2022.36. S1.R3120. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=48544692

4. Khvatov, V. A. Lymph outflow from the goat's heart / V. A. Khvatov // Topical issues of veterinary medicine: materials of the international scientific conference dedicated to the 100th anniversary of the Departments of Clinical Diagnostics, internal diseases of animals named after V. A. Khvatov. Sineva A.V., Obstetrics and operative Surgery, St. Petersburg, September 29-30, 2022 /. – St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2022:141-143. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=50059997

5. Topography and blood supply to the mandibular lymph node of the Baikal seal (Pusa sibirica Gmelin, 1788) in ontogenesis / S. A. Sayvanova, N. I. Ryadinskaya, I. V. Anikienko, O. P. Ilyina // Limnology and Freshwater Biology. 2020:4:814-815. DOI 10.31951/2658-3518-2020-A-4-814. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=44423026

6. Ryadinskaya, N. I. Anatomy and physiology of the immune system organs in animals: an electronic textbook for universities: specialty 111801 "Veterinary Medicine" and directions – 111900 "Vetsanexpertiza" – 111400 "Animal science" / N. I. Ryadinskaya, A. I. Afanasyeva. – Barnaul: Altai State Agrarian University, 2013:50. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=46169525

7. Shchipakin, M. V. Histogenesis of lymph nodes of the udder of goats of the Zaanen breed / M. V. Shchipakin // Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. 2014:218:2:335-340. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=21611465
8. Zaitseva, E. D. Anatomical and topographic features of the lymph nodes of the lungs of young sheep of the Romanov breed / E. D. Zaitseva, M. V. Shchipakin // Knowledge of the young for the development of veterinary medicine and the agro-industrial complex of the country: materials of the XI International Scientific Conference of students, postgraduates and young scientists, St. Petersburg, November 24-25, 2022. – St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2022:168-169. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=50201141
9. Guidelines for the preparation and manufacture of anatomical preparations / N. I. Goncharov, L. S. Speransky, A. I. Krayushkin, S. V. Dmitrienko. – Novgorod: Nizhny Novgorod State Medical Academy, 2002:192. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=23511842
10. Bylinskaya, D. S. Technique of bilateral angiography of the organs of the head, brain and neck of animals / D. S. Bylinskaya, M. V. Shchipakin, Yu. Yu. Barteneva, D. V. Vasiliev // Modern problems and prospects of research in animal anatomy and histology, Vitebsk, October 31 – 01, 2019 / Ministry of Agriculture and Food Republic of Belarus, Educational Institution "Vitebsk Order "Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine", Samarkand Institute of Veterinary Medicine. – Vitebsk: Educational institution "Vitebsk Order "Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine", 2019:5-6. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=42279593
11. Panfilov, A. B. Lymphoid tissue of the wall of the large intestine of the wolf - canis lupus / A. B. Panfilov, N. V. Zelenevsky, M. V. Shchipakin [et al.] // Medical immunology. 2017:19:S:426. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=29758461
12. Patent No. 2530159 C1 Russian Federation, IPC A61K 49/04, A01N 1/02. Method of manufacturing radiopaque mass for vasorentgenography in postmortem studies of animals: No. 2013117666/13: application 16.04.2013: publ. 10.10.2014 / M. V. Shchipakin, A.V. Prusakov, D. S. Bylinskaya, S. A. Kuga; applicant Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education "St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine" (FGBOU VPO SPBGAVM). Access mode: https://elibrary.ru/item.asp?id=37453806

АКУШЕРСТВО, ГИНЕКОЛОГИЯ

УДК: 636.082.453.53.2:636.39.082.31
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.353

КАЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СПЕРМЫ КОЗЛОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ДО И ПОСЛЕ КРИОКОНСЕРВАЦИИ

Корочкина Е.А. [1]* – канд. ветеринар. наук, доц. кафедры генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID 0000-0002-7011-4594); **Трифонова А.В.**[2] – канд. биол. наук, директор по науке; **Финагеев Е.Ю.**[1] – канд. ветеринар. наук, асс. кафедры генетических и репродуктивных биотехнологий; **Главацкая Д.Е.**[1] – студ.; **Пушкина В.С.**[1] – студ.

[1] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
[2] ООО «ЦитоГенТест»

*e.kora@mail.ru

Ключевые слова: *сперма, козлы-производители, протокол криоконсервации, искусственное осеменение.*
Keywords: *sperm, breedinggoats, cryopreservationprotocol, artificialinsemenation.*

Финансирование: *РНФ № 23-26-00157 «Влияние МСК из жировой ткани и костного мозга мелких жвачных животных на качественные показатели их сперматозоидов до и после криоконсервации» (соглашение № 23-26-00157 от 13.01.2023).*

Поступила: 07.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ. В настоящее время искусственное осеменение, как одна из разновидностей вспомогательных репродуктивных технологий, имеет масштабное использование в молочном и мясном скотоводстве. Чего нельзя сказать о таком перспективном направлении сельскохозяйственной отрасли как козоводство. Одним из сдерживающих факторов является негативное влияние низких температур на морфофункциональные характеристики сперматозоидов козлов -производителей. Целью настоящих исследований явилась апробация протокола криоконсервации спермы козлов-производителей с модификацией предподготовки и проведением последующей оценки качественных показателей спермы до и после ее глубокой заморозки. Была проведена комплексная оценка качества спермы (объем, концентрация, морфология, подвижность) козлов (n=10) по общепринятым методикам и протоколам. Оценка качественных показателей спермы включала в себя пять этапов: после взятия спермы, два часа после охлаждения, после оттаивания: 0 часов, 1 и 2 часа. Исходя из полученных результатов, сперматозоиды козлов-производителей имеют низкую криорезистентность. После криоконсервации (0, 1 и 2 часа после оттаивания) происходит увеличение количества сперматозоидов с повреждением хвоста на 7,5% ($p \leq 0,05$), 15,5% и 21,8% ($p \leq 0,01$), а также снижение количества прогрессивно двигающихся сперматозоидов в 1,4; 1,6 и 2,5 раз ($p \leq 0,01$) по сравнению с результатами оценки 0 часов после взятия. Использование протокола глубокой двухфазовой заморозки спермы позволяет сохранить жизнеспособность сперматозоидов с прогрессивностью движений, равной

54,2±5,1 % и количеством морфологически нормальных сперматозоидов, равным 64,1±1,9%. При этом предподготовка спермы к процессу криоконсервации (текущий протокол) включает в себя центрифугирование (режим:7000 об/мин в течение 15 минут), удаление семенной плазмы, разбавление 1:4 (разбавитель OptiXcell), охлаждение (4 часа при температуре 4℃); протокол криоконсервации спермы: 1. погружение гоблетов с пайетами 4 см над жидким азотом на 7 минут; 2. полное погружение в жидкий азот.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В настоящее время одной из ведущих, экономически прибыльных отраслей России является сельское хозяйство (данные Росстата, данные группы компаний «РосБизнесКонсалтинг»). Проводя анализ экономической эффективности сельскохозяйственного сектора, нужно отметить, что достаточно перспективным и экономически состоятельным направлением является козоводство. Как известно, козы - полипродуктивные животные, разведение и выращивание которых способствует получению высокоценного молока и ценных сортов сыра (брынза, рокфор, сулугуни и т.д.), диетического мяса, шкур. Кроме того, данный вид животного активно используется при разработке лекарственных препаратов в гуманной медицине (GTCBiotherapeutics, Pharmathene (США)). По данным Росстата, за последние 5 лет объем надоя козьего молока увеличился с 2.8 тыс. т. до 3.9 тыс. т. Вместе с тем, общее поголовье коз на территории России имеет тенденцию к снижению, а именно, в период с 2019 по 2021 годы было зафиксировано уменьшение поголовья данных животных с 1.96 до 1.8 млн голов. Причинами данного сокращения являются отсутствие отечественного генофонда высокоценных козлов-производителей, использование только естественного осеменения, высокая вероятность инбридинга и, как следствие, рождение слабого потомства. В связи с этим актуальным является формирование племенного ядра и организация искусственного осеменения коз с помощью криоконсервации спермы козлов-производителей. Согласно многочисленным исследованиям, технология криоконсервации спермы в значительной степени способствует сохранению генетического материала, увеличивает срок использования спермы и облегчает ее транспортировку, что является экономически выгодным. Однако, принимая во внимание сущность процесса криоконсервации, нужно отметить, что сперматозоиды козлов обладают низкой степенью криорезистентности, что, вероятно, связано с выраженными липидными изменениями в плазматической мембране [1, 5, 6]. Кроме того, проводя анализ результатов научно-практических исследований в области криоконсервации спермы козлов, на сегодняшний день существует достаточно небольшое количество протоколов глубокой заморозки спермы данного вида мелких жвачных животных [6, 8]. В связи с этим, целью настоящих исследований является апробация протокола криоконсервации спермы козлов-производителей с модификацией предподготовки и проведением последующей оценки качественных показателей спермы до и после ее глубокой заморозки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования были проведены в научно-образовательной лаборатории по трансплантации эмбрионов животных на базе ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины». Были проведены взятие и исследование спермы козлов зааненской и чешской пород в возрасте 1-2,5 лет. Всего было взято 10 образцов (n=10). Отбор проб был произведен с помощью искусственной вагины модели IMV (Франция) согласно ГОСТ32222–2013 [3].

Оценка спермы состояла из макро- и микроскопического исследований. При макроскопической оценке проводили исследование объема, запаха и цвета спермы, при микроскопической - определение

концентрации, исследование морфологии и подвижности.

Исследование проводилось с помощью микроскопа Levenhuk MED 45T. Для подсчета концентрации сперматозоидов использовалась камера Горяева [2]. Оценка морфологии и подвижности сперматозоидов проводилась с использованием программы Аргус-CASA. Полученные образцы были разведены в соотношении 1:100. Оценка аликвоты спермы производилась под увеличением 10х10 с использованием камеры Маклера. При оценке подвижности учитывались следующие кинематические параметры подвижности: VAP - средняя скорость движения головки по усредненной траектории, мкм/сек; VSL - скорость прямолинейного движения головки, мкм/сек; VCL - средняя скорость движения сперматозоидов по реальной траектории, мкм/сек; ALH – среднее отклонение головки, мкм; BCF - частота колебательных усредненных движений, Гц; STR - степень прямолинейности направленного движения сперматозоидов, %; LIN - степень волнистости треков, %; WOB - процент осцилляции, %. Для оценки морфологии использовалась окраска по Романовскому-Гимзе с предварительной фиксацией мазков (фиксатор: триарилметан, растворенный в метиловом спирте, 7 минут). Экспозиция мазка в красителе составила 20 минут. Далее была проведена микроскопия (увеличение с использованием иммерсионного объектива100х10, иммерсионное масло). Перед криоконсервацией спермы была проведена ее предподготовка, которая включала в себя: центрифугирование (режим: 7000 об/мин в течение 15 минут) [7], разбавление и охлаждение. Так как сперма козлов содержит фермент фосфолипазу А, одним из важных этапов успешного проведения криоконсервации является удаление семенной плазмы [7]. В связи с этим, было проведено центрифугирование спермы с последующим удалением семенной плазмы (12% от общего объема спермы) и добавления разбавителя OptiXcell (IMV, Франция). Состав данной синтетической среды включал в себя сахара, минеральные соли, буфер, антиоксиданты, глицерин, фосфолипиды, антибиотики (гентамицин, тилозин, линкомицин и спектиномицин). Сперму разбавляли в соотношении 1:4 (0,2 мл – сперма, 0,270 мл – разбавитель, 0,530 мл – бидистиллированная вода), далее - охлаждали при температуре + 4°С в течение двух часов для стабилизации взаимодействия между спермой и средой [4, 8]. После чего производили ручную упаковку разбавленной спермы при помощи микропипетки (Minitube) и пайет объемом 0,25 мл при температуре + 4°С. Протокол заморозки образцов спермы состоял из двух этапов: 1 - соломинки помещали в гоблеты и далее - стаканы 4 см над жидким азотом на 7 минут; 2 - полное погружение в жидкий азот для дальнейшего хранения [10].

Оттаивание спермы производилось при температуре +37°С в течение 30 секунд [8]. С целью изучения влияния разбавителя OptiXcell на жизнеспособность сперматозоидов после глубокой заморозки была проведена инкубация и оценка качества спермы при температуре 38°С в течение 2 часов после ее оттаивания [9]. Оценка качественных показателей спермы включала в себя пять этапов: после взятия спермы, два часа после охлаждения, после оттаивания: 0 часов, 1 и 2 часа. Оттаивание с последующей оценкой производили через 7 дней после глубокой заморозки.

Статистическая обработка данных была проведена при помощи программы Stattech и Medstatistic «Медицинская Статистика» с вычислением показателей вариационного ряда и t-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Согласно результатам комплексной оценки качества, сперма козлов была желтого цвета, имела специфический запах, объем в среднем составлял 0.67±0.07 мл, концентрация – 6.01±7.86 млрд.

Результаты оценки качественных показателей сперматозоидов козлов-производителей до и после криоконсервации отражены на рисунках 1-3, таблице 1.

После разбавления спермы козлов-

производителей синтетической средой OptiXcell в разведении 1: 4 и двухчасового охлаждения были зафиксированы некоторые изменения в морфофункциональной структуре сперматозоидов, в частности - повышение процента прогрессивно двигающихся сперматозоидов на 2,45%, незначительное снижение количества непрогрессивно двигающихся сперматозоидов (без подтверждения статистически значимых различий). При проведении анализа двигательной способности сперматозоидов козлов как на подготовительном этапе к глубокой заморозке, так и после оттаивания, примечательным является самый низкий процент неподвижных сперматозоидов после охлаждения, равный 5,25 %. Можно предположить, что причиной данного явления послужил эффективный состав синтетического разбавителя в аспекте сохранения клеточной мембраны сперматозоидов на этапе охлаждения (2 часа при температуре 4°С).

Результаты морфологической оценки сперматозоидов козлов до и после криоконсервации отражены на рис. 1.

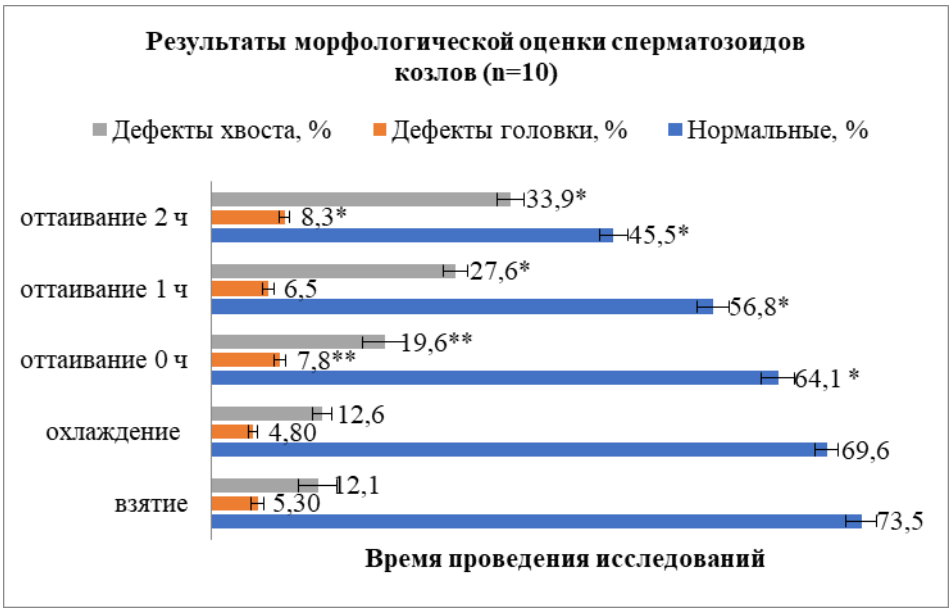


Рисунок 1 – Морфологические показатели сперматозоидов козлов до и после криоконсервации (M±m, n=10).

*Примечание: * - p≤0,01, ** - p≤0,05 (достоверно по сравнению с результатами 0 часов после взятия спермы)*

В ходе анализа морфологических показателей сперматозоидов, достоверные различия были зафиксированы среди количества морфологически нормальных сперматозоидов, а также сперматозоидов с дефектами в структуре головки и хвостовой части. Было установлено закономерное снижение количества морфологически нормальных сперматозоидов после криоконсервации на 9,4; 16,7 и 28 % 0, 1 и 2 часа после оттаивания (p≤0,01) по сравнению с результатами оценки 0 часов после взятия. Наблюдалось статистически значимое увеличение количества сперматозоидов с повреждением головки на 2,5% (p≤0,05) и 3,0% (p≤0,01) 0 и 2 часа после оттаивания, а также количества сперматозоидов с повреждением хвоста на 7,5% (p≤0,05), 15,5% и 21,8% (p≤0,01) 0, 1 и 2 часа после оттаивания, соответственно, по сравнению с результатами оценки 0 часов после взятия. Таким обра-

зом, после криоконсервации спермы наблюдается значительное снижение количества нормальных сперматозоидов и увеличение сперматозоидов с дефектами хвостовой части, что отражается на их двигательной способности (рис.2,3).

Согласно данным рис. 2, достоверное снижение количества прогрессивно двигающихся сперматозоидов было зафиксировано после оттаивания (0,1 и 2 часа) аликвоты спермы в 1,4; 1,6 и 2,5 раз ($p \leq 0,01$), соответственно. Данная тенденция наблюдалась также при анализе количества непрогрессивно двигающихся сперматозоидов, в частности, сокращение их количества в 4,2; 8,5 и 17,6 раз ($p \leq 0,01$), соответственно. После криоконсервации (оттаивание 0, 1 и 2 часа) было зарегистрировано значительное увеличение количества неподвижных сперматозоидов в 4,20; 5,03 и 6,80 ($p \leq 0,01$) раз. Полученные данные подтверждают низкую криорезистентность сперматозоидов козлов-производителей.

Как известно, подвижность сперматозоидов определяется совокупностью кинематических параметров, достоверность которых определяется такими факторами, как глубина счетной камеры, оптимальная скорость передачи кадра, время загрузки, анализа и т.д. Выраженное снижение значений данных показателей отмечалось после оттаивания спермы, при этом достоверные различия были зарегистрированы среди значений VSL (скорость прямолинейного движения головки), VCL (средняя скорость движения сперматозоидов по реальной траектории), VAP (средняя скорость движения головки по усредненной траектории) (рис.3).



Рисунок 2 – Результаты оценки подвижности сперматозоидов козлов до и после криоконсервации (M±m, n=10).

*Примечание: * - p<0,01 (достоверно по сравнению с результатами 0 часов после взятия спермы)*

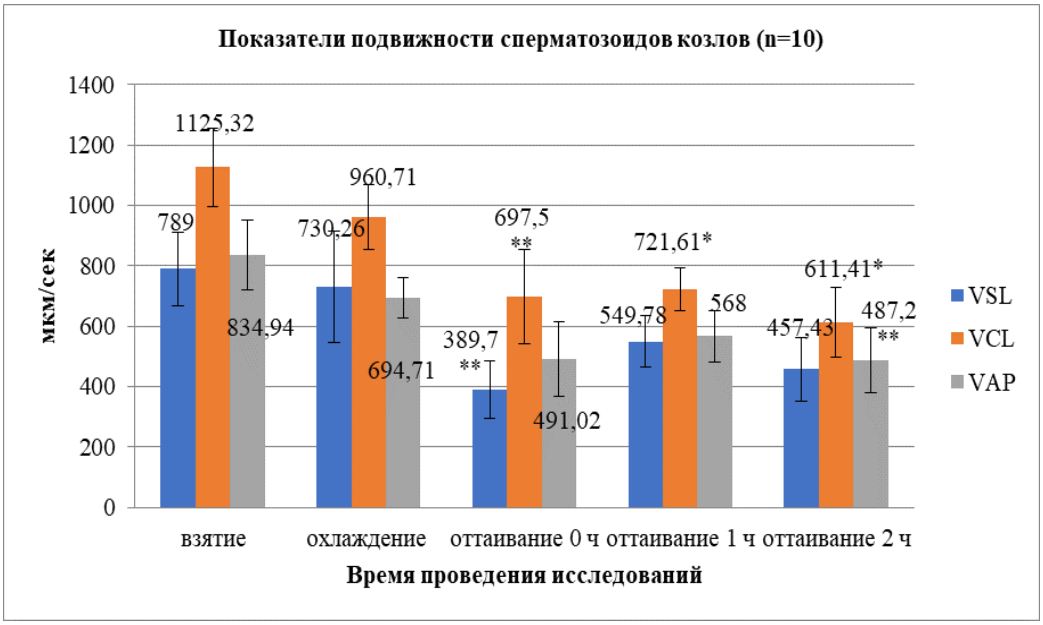


Рисунок 3 – Результаты оценки скорости движения сперматозоидов козлов до и после криоконсервации (M±m, n=10).

*Примечание: * - p<0,01, ** - p≤0,05 (достоверно по сравнению с результатами 0 часов после взятия спермы)*

Так, снижение скорости прямолинейного движения головки отмечалось при оценке аликвоты сразу же после оттаивания, при этом разница значений с данными 0 часов после взятия спермы составила 2,02 раза (p≤0,05). Кроме того, было зафиксировано достоверное снижение средней скорости движения головки сперматозоидов по усредненной траектории в 1,7 раза (p≤0,05) 2 часа после оттаивания по сравнению с результатами 0 часов после взятия. Что касается средней скорости движения сперматозоидов по реальной траектории, то значение данного показателя было достоверно снижено в 1,6 (p≤0,05); 1,5 (p≤0,01) и 1,8 (p≤0,01 раз 0,1 и 2 часа после оттаивания по сравнению с результатами исследований, проведенных после взятия спермы.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Анализ полученных данных позволяет констатировать низкую криорезистентность сперматозоидов козлов-производителей и актуальность усовершенствования существующих протоколов криоконсервации спермы данного вида животных. В частности, после криоконсервации (0, 1 и 2 часа после оттаивания) происходит снижение количества морфологически нормальных сперматозоидов на 9,4; 16,7 и 28 % (p≤0,01) увеличение количества сперматозоидов с повреждением хвоста на 7,5% (p≤0,05), 15,5% и 21,8% (p≤0,01), а также снижение количества прогрессивно двигающихся сперматозоидов в 1,4; 1,6 и 2,5 раз (p≤0,01) по сравнению с результатами оценки 0 часов после взятия.

Исходя из проведенных исследований, использование протокола глубокой двухфазовой заморозки спермы позволяет сохранить жизнеспособность сперматозоидов с прогрессивностью движений, равной 54,2±5,1 % и количеством морфологически нормальных сперматозоидов, равным 64,1±1,9%. При этом, предподготовка спермы к процессу криоконсервации (текущий протокол) включает в себя

центрифугирование спермы (режим:7000 об/мин в течение 15 минут), удаление семенной плазмы, разбавление 1:4 (разбавитель OptiXcell), охлаждение (2 часа при температуре 4℃); протокол криоконсервации спермы: 1. погружение гоблетов с пайетами 4 см над жидким азотом на 7 минут; 2. полное погружение в жидкий азот. Стоит отметить, актуальность разработки наиболее эффективных сред или их составных компонентов с целью повышения эффективности использования криоконсервированной спермы для искусственного осеменения коз.

SPERM QUALITY INDICATORS OF BREEDING GOATS BEFORE AND AFTER CRYOPRESERVATION

Korochkina E.A.[1]* – PhD. In Veterinary science, Associate Professor, Department of Genetic and Reproductive Technologies; **Trifonova A.V.**[2] – PhD in biological science, the director of science; **Finageev E.Y.**[1] – PhD. In Veterinary sciences, Assistant, Department of Genetic and Reproductive Technologies; **Glavatskaya D.E.** [1] – student; **Pushkina V.S.**[1] – student.

[1] St. Petersburg state academy of veterinary medicine

[2] LTD CitoGenTest

*e.kora@mail.ru

Financing: *Russian Science Foundation №. 23-26-00157 "The influence of MSCs from adipose tissue and bone marrow of small ruminants on the quality indicators of their sperm before and after cryopreservation" (agreement №. 23-26-00157 dated 01/13/2023).*

ABSTRACT

Currently, artificial insemination, as one of the types of assisted reproductive technologies, is widely used in dairy and beef cattle breeding. The same cannot be said about such a promising direction in the agricultural industry as goat breeding. One of the limiting factors is the negative impact of low temperature on the morphofunctional characteristics of sperm of breeding goats. The purpose of this research was to test a protocol of sperm cryopreservation of stud goats with modification of pre-preparation and subsequent assessment of the quality indicators of sperm before and after its deep freezing. A comprehensive assessment of sperm quality (volume, concentration, morphology, motility) of goats (n=10) was carried out using generally accepted methods and protocols. The assessment of sperm quality indicators included five stages: after sperm collection, two hours after cooling, after thawing: 0 hours, 1 and 2 hours. According on the obtained results, the sperm of breeding goats ha low cryoresistance. After cryopreservation (0, 1 and 2 hours after thawing), there is an increase in the number of sperm with tail damage by 7.5% ($p \leq 0.05$), 15.5% and 21.8% ($p \leq 0.01$), and also a decrease in the number of progressively moving sperm by 1.4; 1.6 and 2.5 times ($p \leq 0.01$) compared with the results of the assessment 0 hours after collection. The use of a deep two-phase sperm freezing protocol allows maintaining the viability of sperm with a progression of movements equal to 54.2±5.1% and a number of morphologically normal sperm equal to 64.1±1.9%. In this case, the pre-preparation of sperm for the cryopreservation process (current protocol) includes sperm centrifugation (mode: 7000 rpm for 15 minutes), removal of seminal plasma, dilution 1:4 (OptiXcell diluent), cooling (4 hours at 4℃); sperm cryopreservation protocol: 1. immersion of goblets with paillettes 4 cm above liquid nitrogen for 7 minutes; 2. complete immersion in liquid nitrogen.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Айбазов, М. М. Качественные показатели спермы козла, сохраняемой при температуре тающего льда / М. М. Айбазов, Т. В. Мамонтова, М. С. Сеитов // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2018. – № 3 (71). – С. 200-203.

2. Баженова, Н.Б. Оценка качества спермы животных / Н. Б. Баженова, К.В. Племяшов. – СПб.: «Издательство СПбГАВМ», 2007. – 22 с.

3. ГОСТ 32222–2013.Средства воспроизводства. Сперма. Методы отбора проб. –

Веден 2015-01-27. – М.: Стандарт информ, 2018. – 10 с.
4. Корочкина, Е.А. Качество спермы баранов до и после криоконсервации / Е. А. Корочкина, Е. Ю. Финагеев, Д. Е. Главацкая, В. С. Пушкина // Ветеринария. – 2023. – № 8. – С. 34-38.
5. Dorado, J.Cryopreservation of goat spermatozoa: Comparison of two freezing extenders based on post-thaw sperm quality and fertility rates after artificial insemination/J. Dorado, I. Rodríguez, M. Hidalgo// Theriogenology, Vol. 68, Issue 2.-2007.-P. 168-177.
6. Evans, G. Artifical Insemination of Sheep and Goats / G. Evans, W. M. Maxwell, S. Salamon // Butterworth Pty Limited; Tennant Creek, Australia: 1987.
7. Himsikha C. Effect of Centrifugation Regime on Cryopreservation of Beetal Buck Semen / C. Himsikha, S. Sinha, D. Borpujari, B. C. Deka // Indian Journal of Animal Research. – 2023. - 57(2). – P. 178-183.
8. Mook, J.L. Effect of egg yolk level, washing and extended pre-freeze equilibration on postthaw motility of buck semen / Mook, J.L. Wildeus, S. // Southern Section American Society of Animal Science Annual Meeting. Dallas, TX. – 2008.
9. Treulen F. Impactofpostthawsupplementationofsemenextenderwithantioxidantsonthequalityandfunctionvariablesofstallionspermatozoa / F. Treulen, L. Agulia, M.E. Arias, I A. Jofre, R. Felmer // Animal Reproduction Science. - 2019, Vol. 201. - P.71-83.
10. Xu, B. Evaluation of lipidomic change in goat sperm after cryopreservation / Xu B., Wang R., Wang Z., Liu H. et. al. // Front Vet Sci.-2022. P. 1-11.

REFERENCES

1. Aibazov, M. M. Qualitative indicators of goat sperm stored at the temperature of melting ice / M. M. Aibazov, T. V. Mamontova, M. S. Seitov // News of the Orenburg State Agrarian University. – 2018. – №. 3(71). – P. 200-203.
2. Bazhenova, N.B. Assessing the quality of animal sperm / N.B. Bazhenova, K.V. Plemyashov. – St. Petersburg: "SPbGAVM Publishing House", 2007. – 22 P.
3. GOST 32222–2013. Means of reproduction. Sperm. Sampling methods. – Veden 2015-01-27. – M.: Standard Inform, 2018. – 10 P.
4. Korochkina, E.A. The quality of ram sperm before and after cryopreservation / E. A. Korochkina, E. Yu. Finageev, D. E. Glavatskaya, V. S. Pushkina // Veterinary Medicine. – 2023. – No. 8. – P. 34-38.
5. Dorado, J.Cryopreservation of goat spermatozoa: Comparison of two freezing extenders based on post-thaw sperm quality and fertility rates after artificial insemination/J. Dorado, I. Rodríguez, M. Hidalgo// Theriogenology, Vol. 68, Issue 2.-2007.-P. 168-177.
6. Evans, G. Artifical Insemination of Sheep and Goats / G. Evans, W. M. Maxwell, S. Salamon // Butterworth Pty Limited; Tennant Creek, Australia: 1987.
7. Himsikha C. Effect of Centrifugation Regime on Cryopreservation of Beetal Buck Semen / C. Himsikha, S. Sinha, D. Borpujari, B. C. Deka // Indian Journal of Animal Research. – 2023. - 57(2). – P. 178-183.
8. Mook, J.L. Effect of egg yolk level, washing and extended pre-freeze equilibration on postthaw motility of buck semen / Mook, J.L. Wildeus, S. // Southern Section American Society of Animal Science Annual Meeting. Dallas, TX. – 2008.
9. Treulen F. Impactofpostthawsupplementationofsemenextenderwithantioxidantsonthequalityandfunctionvariablesofstallionspermatozoa / F. Treulen, L. Agulia, M.E. Arias, I A. Jofre, R. Felmer // Animal Reproduction Science. - 2019, Vol. 201. - P.71-83.
10. Xu, B. Evaluation of lipidomic change in goat sperm after cryopreservation / Xu B., Wang R., Wang Z., Liu H. et. al. // Front Vet Sci.-2022. P. 1-11.

УДК: 619:618:616-002.2:616.34:636.2
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.361

РОЛЬ СИНДРОМА ХРОНИЧЕСКОГО СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У СТЕЛЬНЫХ КОРОВ В РАЗВИТИИ АНТЕНАТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ ПЕЧЕНИ У НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ

Паршин П.А. * – д-р ветеринар. наук, проф., директор (0000-0002-8790-0540); **Востроилова Г.А.** – д-р биол. наук, гл. науч. сотр. отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем, (ORCID 0000-0002-2960-038X); **Бригадиров Ю.Н.** – д-р ветеринар наук, гл. науч. сотр. отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем (ORCID 0000-0003-3804-1732); **Шапошников И.Т.** – д-р биол. наук, гл. науч. сотр. отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем (ORCID 0000-0003-0190-9083); **Жуков М.С.** – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем (ORCID 0000-0002-9317-7344); **Акулова К.О.** – мл. науч. сотр. отдела клинико-лабораторных исследований (ORCID 0000-0003-0120-9370).

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»

*doktor.57@mail.ru

Ключевые слова: *коровы, беременность, хроническое воспаление, цитокины, новорожденные телята, патология печени.*

Keywords: *cows, pregnancy, chronic inflammation, cytokines, newborn calves, liver pathology.*

Поступила: 06.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Проведены исследования по изучению влияния цитокинового профиля коров с синдромом хронического системного воспаления в третьем триместре беременности на гематобиохимический статус новорожденных телят. Опыт проводился на коровах красно-пестрой породы, которые были разделены на 2 группы: 1 группа (n = 15) – клинически здоровые коровы с неосложненным течением беременности, средняя упитанность 3,6±0,16 балла, 2 группа (n = 7) – коровы с синдромом хронического системного воспаления низкой степени интенсивности, средняя упитанность 4,4±0,20 балла. В начале третьего триместра беременности у коров отбирались пробы сыворотки крови с целью определения уровня интерлейкина-1β (ИЛ-1β), фактора некроза опухоли-α (ФНО-α), интерлейкина-2 (ИЛ-2), интерлейкина-4 (ИЛ-4), интерлейкина-10 (ИЛ-10) и интерферона-γ (ИНФ-γ). На 3 день после рождения у полученных телят производился отбор проб крови для анализа. Определяли вышеуказанные цитокины и гематобиохимические показатели. Установлено, что у телят из группы 2 уровень ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10 и ИНФ-γ был ниже группы сравнения на 10,0; 29,3; 24,5 и 17,4% соответственно, а ИЛ-1β и ФНО-α были выше на 45,8 и 8,7%. Корреляционный анализ Спирмена показал, что между уровнем цитокинов коров-матерей и аналогичными показателями у новорожденных имеется

достоверная прямая корреляционная связь заметной и высокой силы, что указывает на влияние сигнальных белков организма матери на внутриутробное развитее плода. В результате у телят, рожденных от коров с синдромом хронического системного воспаления, диагностировали неонатальную гепатодистрофию, сопровождающуюся синдромом цитолиза и холестаза, накоплением эндотоксинов и снижением энергетических субстратов. Полученные данные показывают, что изменение цитокинового профиля во время беременности в сторону преобладания провоспалительных цитокинов создает риск развития антенатальной патологии печени у будущего потомства, тем самым образуя предпосылки для развития коморбидной патологии у новорожденных.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Проблема получения и сохранения здорового молодняка сельскохозяйственных животных относится к числу наиболее актуальных в животноводстве, решение которой во многом определяет его эффективность. Жизнедеятельность новорожденных телят во многом определяется полноценностью антенатального развития. При этом в последние годы отмечается увеличение частоты рождения телят с антенатальными патологиями, которые создают риск срыва адаптационно-приспособительных механизмов у новорожденных, что в большинстве случаев приводит к развитию перинатальной патологии [2, 6].

Необходимо отметить, что важным фактором регуляции системы мать-плацента-плод являются цитокины, которые играют важную роль в течение беременности на всех ее этапах, начиная с имплантации эмбриона и до родов [10]. Однако сохранение воспалительной реакции при хроническом процессе в стадии клинической ремиссии или возникновение осложнений беременности в виде анемии, гестоза и других патологий могут оказывать большое влияние на цитокиновый профиль матерей [4, 5, 11]. Такие изменения имеют непосредственное отражение на росте и развитии плода и определяют вектор развития вероятных патологий в последующей жизни у новорожденных, то есть имеет место быть программируемое развитие [7, 11]. В связи с этим проблема внутриматочного развития плода на фоне различных патологических состояний не теряет своей актуальности.

Целью исследования явилось изучение влияния цитокинового профиля коров с синдромом хронического системного воспаления в третьем триместре беременности на гематобиохимический статус новорожденных телят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования осуществляли с учетом требований биоэтической комиссии ФГБНУ «ВНИВИПФиТ». Опыт проводился в условиях скотоводческого предприятия, расположенного в Бобровском районе Воронежской области. В нём были задействованы стельные коровы красно-пестрой породы, находившиеся на беспривязном содержании и получавшие полноценный рацион. При помощи клинического и лабораторного обследования коров было сформировано 2 группы: 1 группа (n = 15) – клинически здоровые коровы с неосложненным течением беременности, 2 группа (n = 7) – коровы с синдромом хронического системного воспаления низкой степени интенсивности. Синдром хронического системного воспаления низкой степени интенсивности – определяли при выявлении незначительного увеличения содержания ИЛ-1β, ФНО-α и ИЛ-2 относительно группы 1. Телята, полученные от подобранных коров, были рождены в результате самопроизвольных и неосложнённых родов. В первые минуты после рождения коровы облизывали телят, после чего новорожденных помещали на 2 часа в термоклетку (38,5-40,0оС) для искусственного высушивания. Затем телята переводились в индивидуальные боксы профилактория. Перед первым кормлением с помощью весов определяли массу тела животных. Через час и 6 часов после рождения с помощью метода «дренчивания» осуществ-

ляли выпойку молозива в объеме 2 литров.

Отбор проб крови у коров произвели в начале третьего триместра беременности. Кровь отбирали через 6 часов после кормления из хвостовой вены с помощью вакуумной системы забора крови в пробирки с активатором свёртываемости крови SiO2 («Chengdu Puth Medical Plastics Packaging Co., Ltd.» Китай) для получения сыворотки крови. В ней определяли содержание интерлейкина-1β (ИЛ-1β), интерлейкина-2 (ИЛ-2), интерлейкина-4 (ИЛ-4), интерлейкина-10 (ИЛ-10), интерферона-γ (ИНФ-γ) и фактора некроза опухоли-α (ФНО-α) методом иммуноферментативного анализа с использованием коммерческих тест-систем согласно утверждённым наставлениям к диагностическим наборам (АО «Вектор-Бест», Россия). У телят отбор крови осуществлялся на 3 день от рождения из ярёмной вены в пробирки с активатором свертывания крови SiO2 для получения сыворотки и в пробирки с ЭДТА для стабилизации цельной крови. В цельной крови определяли количество эритроцитов, гемоглобина, гематокрит, средний объём эритроцита (MCV), среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), среднюю концентрацию гемоглобина в эритроците (MCHC). В сыворотке крови телят определяли: ИЛ-1 β, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10, ФНО -α, ИНФ-γ. Из биохимических показателей крови определяли количество общего белка, мочевины, креатинина, общих липидов, холестерина, глюкозы, билирубина, уровень молекул средней молекулярной массы, определяемых на длине волны 254 (МСМ254), 280 нм. (МСМ280), активность щелочной фосфатазы (ЩФ), аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и гамма-глутаминтрансферазы (ГГТ).

При выполнении лабораторных исследований использовали фотоэлектроколориметр КФК-3 (Россия), спектрофотометр Shimadzu UV-1700 (Япония), анализатор иммуноферментных реакций АИФР-01 УНИПЛАНтм (Россия), гематологический анализатор ABX Micros 60 CT/OT (Франция), биохимический анализатор Hitachi 902 (Япония) и микроскоп Микромед 3 U3 (Россия) с соблюдением правил эксплуатации приборов.

Полученные данные подвергались статистической обработке с использованием пакета программ Statistica v10. Рассчитывали среднюю арифметическую (M) и стандартную ошибку средней (SE). Достоверность различия между выборками оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Для оценки силы влияния цитокинового профиля коров на уровень цитокинов у новорожденных проводили непараметрический корреляционный анализ с определением коэффициента корреляции Спирмена (Rs).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Клиническое обследование 22 коров показало, что все задействованные в исследовании животные были клинически здоровыми. Однако при исследовании уровня цитокинов было выявлено 7 голов с повышенным уровнем провоспалительных интерлейкинов, которые были объединены в одну группу (группа 2). Результаты статистического анализа показали, что у животных из 2 группы уровень ИЛ-1β был выше показателей здоровых животных в 2,2 раза, а ФНО-α и ИЛ-2 увеличены на 74,1 и 76,5% соответственно. Уровень противовоспалительных интерлейкинов был понижен: ИЛ-4 на 31,5%, а ИЛ-10 на 40,0%. Также было отмечено, средняя упитанность данных коров составляла 4,4±0,20 балла против 3,6±0,16 в группе 1, что указывает на избыточное отложение жировой ткани.

Все телята, полученные от задействованных в исследовании коров, родились в результате неосложнённых самопроизвольных родов. Клиническое обследование новорожденных показало, что все телята не имели уродств и были симметрично развиты. Вес телят в группе 1 составлял 31,1±0,95 кг против 31,3±1,12 кг во второй группе. Осмотр слизистой оболочки дёсен выявил, что у всех животных она была равномерно окрашена в розово-красный цвет, а количество резцов составляло от 6 до 8 шт. Средняя частота

дыхательных движений через 15 мин после рождения была равна 33,7±1,06 дд/мин, частота сердечных сокращений 125,1±10,21 уд/мин, а температура тела 39,1±0,08 °С. Таким образом, все новорожденные телята имели нормальное морфофункциональное развитие и не имели явных клинических признаков патологии.

Исследования цитокинового профиля новорожденных телят выявили, что у телят из группы 2 уровень ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10 и ИНФ-γ был ниже группы сравнения на 10,0; 29,3; 24,5 и 17,4% соответственно, а ИЛ-1β и ФНО-α были выше на 45,8 и 8,7%. Корреляционный анализ Спирмена показал, что между уровнем ИЛ-1β, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10 и ФНО-α коров матерей, и аналогичными показателями новорожденных имеется достоверная прямая корреляционная связь заметной и высокой силы влияния по шкале Чеддока (табл. 1).

Гематологические исследования крови новорожденных телят показали, что у животных из группы 1 отсутствовали какие-либо отклонения от нормы [6]. При сравнении количества лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина, гематокрита и эритроцитарных коэффициентов у телят из группы 1 и 2 не было выявлено достоверно значимых изменений. Однако биохимический профиль телят из группы 2 характеризовался повышенным уровнем мочевины, билирубина на 44,9 и 70,5%. Активность ЩФ и АсАТ также была достоверно повышена на 96,0 и 53,9% соответственно. Выявленное сочетание позволяет говорить о наличии у новорожденных телят синдрома цитолиза и холестаза, что характерно для антенатальной гепатодистрофии. Помимо отмеченных изменений со стороны печени было отмечено увеличение уровня молекул средней молекулярной массы, определяемых на длине волны 254 и 280 нм, на 79,9 и 52,2% соответственно, указывающие на наличие эндогенной интоксикации. Уровень холестерина, триглицеридов и глюкозы при этом был ниже группы сравнения на 32,2; 19,3 и 27,5% (табл. 2).

Таким образом, проведенное исследование показало, что цитокиновый профиль коров с синдромом хронического системного воспаления низкой степенности интенсивности в третьем триместре беременности характеризовался повышенным уровнем провоспалительных и пониженным уровнем противовоспалительных цитокинов. Отмеченное низкоуровневое хроническое воспаление у коров вероятнее всего было обусловлено избыточным накоплением жировой ткани. В настоящее время известно, что синтез цитокинов не ограничивается только иммунной системой и многие органы и ткани способны их секретировать. Так при избыточном образовании жировой ткани запускается низкоуровневое хроническое воспаление, индуктором которого выступают насыщенные жирные кислоты, лептин, молекулярные паттерны, связанные с гипоксией и повреждением гипертрофированных адипоцитов [8].

В свою очередь при изучении цитокинового профиля телят, рожденных от коров с синдромом хронического системного воспаления во время беременности, установлено, что уровень ИЛ-1β и ФНО-α значительно превышал аналогичные показатели телят из группы сравнения, что вероятнее всего связано с влиянием цитокинового профиля коров-матерей. Для установления данной связи нами был проведён корреляционный анализ между уровнем цитокинов коров-матерей в третьем триместре беременности и их уровнем у новорожденных телят. В результате была выявлена достоверная прямая корреляционная связь, которая позволяет в полной мере говорить о влиянии сигнальных белков организма матери на внутриутробное развитие плода. В подтверждении этого имеется исследование, в котором показано, что у новорожденных, родившихся от матерей с патологически протекающей беременностью, в пуповинной крови выявляется повышенное содержание провоспалительных цитокинов. Авторами установлено, что повышение ИЛ-6 и ФНО-α при сохранении нормального уровня ИЛ-1β является начальным

признаком проявления неонатальной дезадаптации, которая в дальнейшем может завершиться развитием неонатальной патологией [9]. В нашем случае у телят, рожденных от коров с синдромом хронического системного воспаления, диагностировали антенатальную гепатодистрофию, сопровождающуюся синдромом цитолиза и холестаза, накоплением эндотоксинов и снижением энергетических субстратов. Вероятнее всего развитее патологии печени было инициировано, активностью иммунной системы матери.

Все чаще признается, что печень плода во время беременности функционирует как основной иммунный орган. Недавние исследования, проведенные на овцах в третьем триместре беременности, показали, что введение липополисахарида (ЛПС) усиливает экспрессию провоспалительных генов (ИЛ-1α, ИЛ-1β, ФНО-α, ИЛ-6 и ИЛ-8) в гепатоцитах и печеночных макрофагах плода [18]. Авторы отмечают, что в их случае активация провоспалительных генов проходила через NF-kB-сигнальный путь, который сопровождается деградацией белка IkBα, ингибитора транскрипционного фактора NF-kB. В результате происходит транслокация субъединиц NF-kB в ядро и активация подконтрольных ему генов. Необходимо отметить, что NF-kB-опосредованная активация может быть индуцирована не только через Toll-подобные рецепторы липополисахаридов (TLR4), но и через молекулярные структуры, связанные с повреждением, такие как перекисное окисление липидов (ПОЛ), продуцируемая окислительным стрессом (TLR9) [3, 13]. Также подобная активация может быть индуцирована цитокинами первичного иммунного ответа [12, 15]. Исходя из вышеизложенного можно предположить, что повреждение печени плода может происходить через TLR9 и/или провоспалительные цитокины. Однако необходимо отметить, что в третьем триместре беременности у всех коров независимо от клинического состояния происходит активизация ПОЛ [1], в связи, с чем активация NF-kB через TLR9 не имеет достаточной силы влияния для развития антенатальной патологии печени у плода. Вероятнее всего имеет место синергетическое действие провоспалительных цитокинов матери и агонистов TLR9, которые запускают NF-kB-сигнальный путь, индуцирующий низкоуровневое воспаление в печени. Провоспалительные цитокины в свою очередь запускают не только воспаление, но и изменяют обмен глюкозы и липидов, что, в конечном счете, приводит

Таблица 1 – Цитокиновый профиль коров-матерей с синдромом хронического системного воспаления низкой степени интенсивности и его влияние на новорожденных телят

Показатели	Группа	Коровы	Телята	R_s
ИЛ-1β, пг/мл	1	3,0±0,25	2,4±0,18	0,65*
	2	6,5±0,22♦	3,5±0,56♦	
ИЛ-2, пг/мл	1	3,4±0,20	6,0±0,16	-0,35
	2	6,0±0,30♦	5,4±0,05♦	
ИЛ-4, пг/мл	1	5,4±0,74	1,5±0,21	0,66*
	2	3,7±1,02	1,06±0,05♦	
ИЛ-10, пг/мл	1	7,0±1,01	4,9±0,36	0,80*
	2	4,2±0,35♦	3,7±0,06♦	
ФНО-α, пг/мл	1	2,7±0,13	2,3±0,01	0,68*
	2	4,7±0,06♦	2,5±0,01♦	
ИНФ-γ, пг/мл	1	4,5±0,40	4,6±0,47	0,19
	2	4,2±0,12	3,8±0,12♦	

*Примечание: ♦ – $P < 0,05$ в сравнении с группой 1; * – $P < 0,05$*

Таблица 2 – Гематобиохимический профиль телят, рожденных от коров с синдромом системного хронического воспаления низкой степени интенсивности

Показатели	Группа 1 (n=15)	Группа 2 (n=7)
Лейкоциты, 10^9/л	8,1±0,60	7,5±0,63
Эритроциты, 10^{12}/л	7,4±0,11	7,9±0,38
Гемоглобин, г/л	95,8±2,95	96,0±4,16
Гематокрит, %	29,5±2,95	31,6±2,38
MCV, мкм^3	39,7±1,87	40,0±2,08
MCH, пкг	11,9±0,82	12,1±0,21
MCHC, г/л	298,5±8,49	305,0±1,25
Общий белок, г/л	67,5±2,56	71,4±0,69
Мочевина, мМ/л	4,9±0,53	7,1±1,10*
Креатинин, мкМ/л	93,5±5,14	107,3±12,41
Общие липиды, г/л	2,6±0,18	2,2±0,21
Триглицериды, мМ/л	0,59±0,03	0,40±0,07*
Холестерин, мМ/л	1,5±0,17	1,2±0,04*
Глюкоза, мМ/л	4,0±0,30	2,9±0,27*
Билирубин, мкМ/л	11,2±1,97	19,1±1,83*
ЩФ, Е/л	198,0±16,80	388,0±37,0*
АлАТ, Е/л	10,3±1,55	9,6±1,72
АсАТ, Е/л	25,6±5,02	39,4±4,67*
ГГТ, Е/л	177,1±38,1	193,2±23,0
$МСМ_{254}$, усл. ед.	0,287±0,024	0,482±0,024*
$МСМ_{280}$, усл. ед.	0,268±0,032	0,408±0,021*

*Примечание: * – P < 0,05 в сравнении с группой 1*

к метаболическим расстройствам [16, 17], признаки которых наблюдались у новорожденных телят, полученных от коров с синдромом хронического системного воспаления низкой степени интенсивности. Доказано, что ФНО-α действует, как активатор липопротеинлипазы, которая расщепляет триглицериды, что позволяет поддерживать адекватный энергетический баланс в здоровом организме [14]. Также к настоящему времени известно, что подобными свойствами обладают и другие провоспалительные цитокины, такие как ИЛ-1β и ИЛ-6, а ИЛ-4 и ИЛ-10 в свою очередь противодействуют катаболическому действию провоспалительных цитокинов [8]. Таким образом, имеется регулирующее влияние цитокинов на метаболизм живых организмов.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведенные исследования показали, что цитокиновый профиль коров-матерей напрямую влияет на внутриутробное развитее плода. Установлено, что изменение цитокинового профиля во время беременности в сторону преобладания провоспалительных цитокинов создает риск развития антенатальной патологии печени у будущего потомства, тем самым образуя предпосылки для развития коморбидной патологии у новорожденных.

THE ROLE OF CHRONIC SYSTEMIC INFLAMMATION SYNDROME IN PREGNANT COWS IN THE DEVELOPMENT OF ANTENATAL LIVER PATHOLOGY IN NEWBORN CALVES

Parshin P.A. * – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Director (0000-0002-8790-0540); **Vostroilova G.A.** – Doctor of Biological Sciences, Chief Scientific Officer. sotr. Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems, (ORCID 0000-0002-2960-038X); **Brigadirov Yu.N.** – Doctor of Veterinary Sciences,

Chief Scientific Officer. sotr. Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems (ORCID 0000-0003-3804-1732); **Shaposhnikov I.T.** – Doctor of Biological Sciences, Chief Scientific Officer. sotr. Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems (ORCID 0000-0003-0190-9083); **Zhukov M.S.** – cand. veterinarian. sciences, art. sci. sotr. Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems (ORCID 0000-0002-9317-7344); **Akulova K.O.** – ml. scientific. sotr. Department of Clinical and Laboratory Research (ORCID 0000-0003-0120-9370).

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

*doktor.57@mail.ru

ABSTRACT

Studies have been conducted to study the effect of the cytokine profile of cows with chronic systemic inflammation syndrome in the third trimester of pregnancy on the hematobiochemical status of newborn calves. The experiment was conducted on red-mottled cows, which were divided into 2 groups: group 1 (n = 15) – clinically healthy cows with uncomplicated pregnancy, average fatness 3.6 ± 0.16 points, group 2 (n = 7) – cows with low-intensity chronic systemic inflammation syndrome, average fatness 4.4± 0.20 points. At the beginning of the third trimester of pregnancy, blood serum samples were taken from cows to determine the level of interleukin-1β (IL-1β), tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-2 (IL-2), interleukin-4 (IL-4), interleukin-10 (IL-10) and interferon-γ (INF-γ). On the 3rd day after birth, blood samples were taken from the received calves for analysis. The above cytokines and hematobiochemical parameters were determined. It was found that in calves from group 2, the level of IL-2, IL-4, IL-10 and INF-γ was lower than the comparison group by 10.0; 29.3; 24.5 and 17.4%, respectively, and IL-1ß and TNF-α were 45.8 and 8.7% higher. Spearman's correlation analysis showed that there is a significant direct correlation of noticeable and high strength between the level of cytokines of maternal cows and similar indicators in newborns, which indicates the influence of signaling proteins of the mother's body on fetal development. As a result, neonatal hepatodystrophy was diagnosed in calves born from cows with chronic systemic inflammation syndrome, accompanied by cytolysis and cholestasis syndrome, accumulation of endotoxins and a decrease in energy substrates. The data obtained show that a change in the cytokine profile during pregnancy towards the predominance of pro-inflammatory cytokines creates a risk of developing antenatal liver pathology in future offspring, thereby forming prerequisites for the development of comorbid pathology in newborns.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Востроилова Г.А., Паршин П.А., Жуков М.С., Хохлова Н.А., Шабанов Д.И., Корчагина А.А. Состояние прооксидантно-антиоксидантной системы у коров с разным клиническим состоянием во время беременности. Международный вестник ветеринарии. 2023; 2: 301- 311. DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.2.301

2.Жуков М.С., Алехин Ю.Н. Показатели заболеваемости и выживаемости новорожденных телят с разной массой тела. Ветеринария. 2020; 11: 44-48. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.11.44-48

3.Лебедева Е.С., Багаев А.В., Чулкина М.М., Пичугин А.В., Атауллаханов Р.И. NF-kB-, но не MAPK-сигнальный путь определяет синергический ответ макрофагов на одновременную активацию двух типов рецепторов TLR4 + NOD2 или TLR9 + NOD2. Иммунология. 2017; 38 (2): 76-82. DOI: 0.18821/0206-4952-2017-38-2-76-82

4.Паршин П.А., Востроилова Г.А., Бригадиров Ю.Н., Шапошников И.Т., Жуков М.С., Сашнина Л.Ю., Акулова К.О., Якимчук О.В. Иммунный статус коров с разным сроком беременности и в ранний послеродовой период. Ветеринарный фармакологический вестник. – № 3 (24). – С. 65-80. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2023.3.65

5. Чеснокова Н.П., Яхамова Н.Н., Архан-

гельский С.М. О роли нарушений иммунного статуса матери и плода в патогенезе гестоза. Саратовский научно-медицинский журнал 2008; 22 (4): 26-29.
6. Шахов А.Г., Алехин Ю.Н., Шабунин С.В., Сашнина Л.Ю., Федосов Д.В., Ерина Т.А., Пригородова О.В., Сидельникова И.Р. Методическое пособие по диагностике и профилактике нарушений антенатального и интранатального происхождения у телят. ГНУ ВНИВИПФиТ, Воронеж: издательство «Истоки», 2013; 92 с.
7. Щербаков В.И., Рябиченко Т.И., Скосырева Г.А., Обухова О.О., Трунов А.Н. Возможное влияние внематочного и плацентарного воспаления на активацию иммунной системы беременной и программируемое развитие плода. Российский вестник акушера-гинеколога. 2021; 21(2): 14–20. DOI: 10.17116/rosakush20212102114
8. Щербаков В.И., Скосырева Г.А., Рябиченко Т.И., Обухова О.О. Цитокины и регуляция глюкозы и липидов при ожирении. Ожирение и метаболизм. 2022; 19 (3): 317-323. DOI: 10.14341/omet12863
9. Якорнова Г.В., Ремизова И.И., Чистякова Г.Н., Устьянцева Л.С. Динамика провоспалительных цитокинов у детей, родившихся у женщин с осложненной беременностью, в зависимости от течения раннего периода адаптации. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2015; 4: 50-56.
10. Alam S.M.K., Konno T., Dai C., Lu L., Wang D., Dunmore J.H., Godwin A.R., Soares M.J. A uterine decidual cell cytokine ensures pregnancy — dependent adaptations to a physiological stressor. Development. 2007; 134 (1): 407-415. DOI:10.1242 / dev.02743
11. Burton G.J., Fowden A.L., Thornburg K.L. Placental origins of chronic disease. Physiol Rev. 2016; 96 (4):1509-1515. DOI. 10.1152/physrev.00029.2015.
12.Colotta F, Re F, Muzio M, Bertini R., Polentarutti N., Sironi M., Giri J.G., Dower S.K., Sims J.E., Mantovani A. Interleukin-1 type II receptor: a decoy target for IL-1 that is regulated by IL-4. Science 1993; 261: 472 -475. DOI: 10.1126/science.8332913
13.Kumagai T., Matsukawa N., Kaneko Y., Kusumi Y., Mitsumata M., Uchida K. A lipid peroxidation-derived inflammatory mediator: identification of 4-hydroxy-2-nonenal as a potential inducer of cyclooxygenase-2 in macrophages. J Biol Chem 2004; 279: 48389–48396. DOI: 10.1074/jbc.M409935200
14.Li L, Yang G, Shi S, Yang M., Liu H., Boden G.The adipose triglyceride lipase, adiponectin and visfatin are downregulated by tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) in vivo. Cytokine. 2009; 45(1): 12-19. DOI: 10/1016/j.cyto.2008.10.006
15.Parameswaran N., Patial S. Tumor necrosis factor-a signaling in macrophages. Crit Rev Eukaryot Gene Expr. 2010; 20: 87-103. DOI: 10.1615/critreveukargeneexpr.v20.i2.10
16.Shi J., Fan J., Su Q., Yang Z. Cytokines and Abnormal Glucose and Lipid Metabolism. Front Endocrinol (Lausanne). 2019; 10: 703. DOI: 10.3389/fendo.2019.00703
17.Somm E., Henrichot E., Pernin A., Juge-Aubry C.E., Muzzin P., Dayer J.M., Nicklin M.J., Meier C.A. Decreased fat mass in interleukin-1 receptor antagonist–deficient mice. Diabetes. 2005; 54(12): 3503-3509. DOI: 10.2337/diabetes.54.12.3503.
18.Zarate M.A., Wesolowski S.R., Nguyen L.M., De Dios R.K., Wilkening R.B., Rozance P.J., Wright C.J. In utero inflammatory challenge induces an early activation of the hepatic innate immune response in late gestation fetal sheep. Innate Immun. 2020; 26(7): 549-564. DOI: 10.1177/1753425920928388

REFERENCES

1.Vostroilova G.A., Parshin P.A., Zhukov M.S., Khokhlova N.A., Shabanov D.I., Korchagina A.A. The state of the prooxidant -antioxidant system in cows with different clinical conditions during pregnancy. International Bulletin of Veterinary Medicine. 2023; 2: 301- 311. DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.2.301
2.Zhukov M.S., Alyokhin Yu.N. Indicators of morbidity and survival of newborn calves with different body weight. Veterinary medicine. 2020; 11: 44-48. DO IT: 10.30896/0042-4846.2020.23.11.44-48

3.Lebedeva E.S., A Bagaev.V., Chulkina M.M., Pichugin A.V., Ataullakhanov R.I. NF-KB, but not the Mark-signaling pathway determines the synergistic response of macrophages to simultaneous activation of two types of TLR4 + NOD2 or TLR9 + NOD2 receptors. Immunology. 2017; 38 (2): 76-82. DOI: 0.18821/0206-4952-2017-38-2-76-82

4.Parshin P.A., Vostroilova G.A., Brigadirov Yu.N., Shaposhnikov I.T., Zhukov M.S., Sashnina L.Yu., Akulova K.O., Yakimchuk O.V. Immune status of cows with different gestation periods and in the early postpartum period. Veterinary Pharmacological Bulletin. – No. 3 (24). – pp. 65-80. DOI: 10.17238/ issn2541-8203.2023.3.65

5.Chesnokova N.P., Yakhamova N.N., Arkhangelsky S.M. On the role of violations of the immune status of the mother and fetus in the pathogenesis of gestosis. Saratov Journal of Medical Science 2008; 22 (4): 26-29.

6.Shakhov A.G., Alyokhin Yu.N., Shabunin S.V., Sashnina L.Yu., Fedosov D.V., Erin T.A., Prigorodova O.V., Sidelnikova I.R. Methodological guide for the diagnosis and prevention of disorders of antenatal and intranatal origin in calves. GNU VNIVIPFiT, Voronezh: Istoki Publishing House, 2013; 92 p.

7.Shcherbakov V.I., Ryabichenko T.I., Skosyreva G.A., Obukhova O.O., Trunov A.N. Possible influence of ectopic and placental inflammation on activation of the immune system of a pregnant woman and programmed fetal development. Russian Bulletin of the obstetrician-gynecologist. 2021; 21 (2): 14–20. DOI: 10.17116/ rosakush20212102114

8.Shcherbakov V.I., Skosyreva G.A., Ryabichenko T.I., Obukhova O.O. Cytokines and regulation of glucose and lipids in obesity. Obesity and metabolism. 2022; 19 (3): 317-323. DOI: 10.14341/omet12863

9.Yakornova G.V., Remizova I.I., Chistyakova G.N., Ustyantseva L.S. Dynamics of proinflammatory cytokines in children born to women with complicated pregnancy, depending on the course of the early period of adaptation. Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics. 2015; 4: 50-56.

10.Alam S.M.K., Konno T., Dai S., Lu L., Wang D., Dunmore J.H., Godwin A.R., Soares M.J. The cytokine of decidual uterine cells provides pregnancy-dependent adaptation to a physiological stressor. Development. 2007; 134 (1): 407-415. DOI:10.1242 /dev.02743

11.Burton G.J., Fauden A.L., Thornburg K.L. Placental origins of chronic diseases. Physiol Rev. 2016; 96 (4): 1509-1515. DOI. 10.1152/physrev.00029.2015.

12.Kolotta F., Re F., Muzio M., Bertini R., Polentarutti N., Sironi M., Giri J.G., Dower S.K., Sims J.E., Mantovani A. Interleukin-1 receptor type II: a bait target for IL-1, which is regulated by IL-4. Science 1993; 261:472-475. DOI: 10.1126/science.8332913

13.Kumagai T., Matsukawa N., Kaneko Yu., Kusumi Yu., Mitsumata M., Uchida K. Inflammatory mediator resulting from lipid peroxidation: identification of 4-hydroxy-2-nonenal as a potential inducer of cyclooxygenase-2 in macrophages. J Biol Chem 2004; 279: 48389-48396. DOI: 10.1074/ jbc.M409935200

14.Li L., Yang G., Shi S., Yang M., Liu H., Boden G.Fat triglyceride lipase, adiponectin and visfatin are suppressed by tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) in vivo. Cytokine. 2009; 45(1): 12-19. DOI: 10/1016/ j.cyto.2008.10.006

15.Parameshwaran N., Patial S. Tumor necrosis factor - signaling in macrophages. A critical review of eukaryotic gene expression. 2010; 20: 87-103. DOI: 10.1615/ critreveukargeneexpr. v20.i2.10

16.Shi J., Fan J., Su K., Yang Z. Cytokines and disorders of glucose and lipid metabolism. Anterior endocrinol (Lausanne). 2019; 10: 703. DOI: 10.3389/fendo.2019.00703

17.Somm E., Henrisho E., Pernin A., Judge-Aubrey S.E., Mazzin P., Dyer J.M., Niklin M.J., Meyer S.A. Reduction of fat mass in mice with deficiency of interleukin-1 receptor antagonists. Diabetes. 2005; 54(12): 3503 -3509. DOI: 10.2337/diabetes.54.12.3503.

18. Zarate M.A., Wesolowski S.R., Nguyen L.M., De Dios R.K., Wilkening R.B., Rozans P.J., Wright K.J. Intrauterine inflammatory process induces early activation of the innate immune response of the liver in a sheep fetus in late pregnancy. Innate immunity. 2020; 26(7): 549-564.

УДК: 636.082
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.370

ВЛИЯНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНО-НАПРАВЛЕННОГО АНТИОКСИДАНТА MITO-TEMPO НА ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА СПЕРМЫ ПЕТУХОВ В ЦИКЛЕ КРИОКОНСЕРВАЦИИ И ЛИОФИЛИЗАЦИИ

Курочкин А.А.* – мл. науч. сотр. лаборатории генетики, разведения и сохранения генетических ресурсов сельскохозяйственных птиц (ORCID 0000-0003-4430-4770); **Станишевская О.И.** – д-р биол. наук, гл. науч. сотр. лаборатории генетики, разведения и сохранения генетических ресурсов сельскохозяйственных птиц (ORCID 0000-0001-9504-3916); **Силюкова Ю.Л.** – мл. науч. сотр. лаборатории генетики, разведения и сохранения генетических ресурсов сельскохозяйственных птиц (ORCID 0000-0003-1905-6373); **Плешанов Н.В.** – науч. сотр. лаборатории генетики, разведения и сохранения генетических ресурсов сельскохозяйственных птиц (ORCID 0000-0002-4634-7515).

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста»

*kurochkin.anton.66@gmail.com

Ключевые слова: *петухи, криоконсервация спермы, лиофилизация спермы, трегалоза, Mito-Tempo, оксидативный стресс, антиоксиданты, митохондрии, активные формы кислорода.*

Key words*: roosters, sperm cryopreservation, sperm lyophilization, trehalose, Mito-Tempo, oxidative stress, antioxidants, mitochondria, reactive oxygen species.*

Финансирование. *Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда, проект № 19-16-00009П.*

Поступила: 05.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

В репродуктивных технологиях, используемых в животноводстве, применение лиофилизированного семени возможно только с помощью технологии ИКСИ, ввиду полной потери подвижности сперматозоидов. Однако, особенности анатомического строения и развития яйцеклетки птиц не позволяют применять данную технологию. Стратегии, направленные на сохранение кинетического аппарата лиофилизированных сперматозоидов, являются наиболее актуальными для птиц. Повышение митохондриальной активности клеток ввиду ее связи с энергетическим обменом и подвижностью сперматозоидов может являться одним из путей решения данной проблемы. Однако, подобных исследований по по лиофилизированному семени птиц до сих пор не было проведено. В представленном исследовании оценивалось влияние митохондриально-направленного антиоксиданта Mito-TEMPO на жизнеспособность, мембранный потенциал митохондрий и генерацию внутриклеточного пероксида водорода сперматозоидами петухов в цикле криоконсервации и лиофилизации. Доля клеток с интактной плазматической мембраной в лиофилизированной сперме была выше при ис-

пользовании разбавителей, содержащих антиоксидант. Добавление Mito-TEMPO в концентрации 40 μM к разбавителям Т-20 и Т-30 для целей криоконсервации семени с последующей лиофильной сушкой, позволило увеличить долю клеток с интактной плазматической мембраной в лиофилизированном семени в сравнении с контрольными разбавителями (6,12±0,11% против 10,19±0,46% и 13,19±1,30% против 15,23±1,13% соответственно, p<0,05). Эффективная концентрация Mito-TEMPO в разбавителях, предназначенных только для криоконсервации семени, была значительно ниже – 5 μM. Доля клеток с интактной плазматической мембраной составила 47,97±0,64% против 55,85±1,69% и 47,25±2,97% против 63,21±1,78%, соответственно, p<0,05. Доказан дозозависимый эффект трегалозы в составе криозащитных разбавителей.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Лиофилизация спермы, как и криоконсервация, является методом сохранения генетических ресурсов сельскохозяйственных животных. Успешные опыты по использованию лиофилизированного семени в репродуктивных технологиях животных показали возможность альтернативного хранения генетического материала. Однако использование лиофилизированного семени подразумевает применение технологии ИКСИ (интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида), поскольку достичь приемлемого уровня общей подвижности спермы для искусственного осеменения пока не удалось. При этом большинство исследователей сходятся на том, что криконсервация и лиофилизация не оказывает значимого влияния на степень фрагментации ДНК [1, 2], что также является одной из причин использования ИКСИ.

Функциональный статус лиофилизированных сперматозоидов после регидрации в огромной степени зависит от этапа замораживания, предшествующего лиофильной сушке. Подходы, применяемые для улучшения характеристик замороженно/оттаянной спермы справедливы и для повышения доли функциональных сперматозоидов после лиофилизации. Процесс криоконсервации способен индуцировать образование избыточного количества активных форм кислорода (АФК), превышающих антиоксидантную емкость клеток. Свободные радикалы и перекиси повреждают структуру белков, провоцируют перекисное окисление липидов плазматических мембран и изменяют функциональный статус митохондрий.

Деструктивное влияние АФК на репродуктивные клетки разных видов сельскохозяйственных животных не одинаково. Данные различия объясняются морфологическими особенностями сперматозоидов, липидным составом плазматических мембран, в частности соотношением холестерин/фосфолипиды [3]. Высокое содержание полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) в плазматических мембранах сперматозоидов делает их уязвимыми к окислительному стрессу за счет процесса липопероксидации, когда в присутствии АФК ПНЖК легко подвергаются перекисному окислению. Данная особенность характерна для спермы птиц и является одной из причин низкой общей активности заморожено/оттаянного семени петухов [4]. Поэтому использование экзогенных антиоксидантов в разбавителях для спермы птиц является перспективным направлением для улучшения характеристик как охлажденной, так и оттаянной спермы.

В последние годы использование митохондриально-направленных антиоксидантов показало свою эффективность, однако исследований на сперме животных пока что не так много. Mito-TEMPO - специфичный для митохондрий антиоксидант, миметик супероксиддисмутазы, связывающийся с супероксидом и алкильными радикалами, проницаемый для клеточных мембран и селективно действующий в митохондриях клеток. В исследовании X. Lu et al. (2018) он показал способность снижать повреждения сперматозоидов, вызванные окислительным стрессом, и повышать качественные показатели семени после оттаивания [5]. В

исследовании Masoudi R. et al. (2020) добавление Mito-TEMPO в среду для хранения спермы петухов в охлажденном виде позволило сохранить приемлемые показатели качества за счет сохранения митохондриальной активности [6]. Эти же исследователи в другой работе показали, что добавление в среду для криоконсервации Mito-TEMPO приводило также к сохранению показателей качества и оплодотворяющей способности заморожено/оттаянного семени петухов [7]. Сходные исследования опубликованы и по другим видам сельскохозяйственных животных [8], и все исследователи сходятся на том, что данный антиоксидант оказывает положительное влияние на характеристики как нативной, так и оттаянной спермы. Однако нет исследований, в которых использовался бы данный подход для нивелирования деструктивного влияния процесса лиофилизации спермы.

Целью нашего исследования было определить возможность повышения митохондриальной активности и целостности плазматических мембран сперматозоидов петухов после цикла криоконсервации и лиофилизации путем добавления в криозащитный разбавитель Mito-TEMPO в различных концентрациях, а также оценить дозозависимый эффект трегалозы в составе разбавителя на эти показатели.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Сперму, полученную от петухов породы царскосельская (n = 20) в возрасте 42–44 недель, «Генетическая коллекция редких и исчезающих пород кур», ВНИИГРЖ, оценивали в лабораторных условиях с помощью фотометрических и микроскопических методов. Критериями отбора нативной спермы являлись следующие параметры: общая подвижность не менее 80%, объем не менее 0,1 мл, концентрация сперматозоидов не ниже 1,5 млрд/мл.

Оцененные эякуляты смешивали в один кластер и делили на аликвоты в соответствии с экспериментальными группами. В качестве контроля использовались среды для криконсервации «Т-20» и «Т-30» без добавления антиоксиданта [9,10], (Таблица 1).

Таблица 1 – Состав контрольных сред для криоконсервации спермы петухов

Состав среды	**Т-20**	**Т-30**
Глутамат натрия, г	1,92 (114 мМ)	1,92 (114 мМ)
Фруктоза, г	0,64 (36 мМ)	0,56 (31 мМ)
Ацетат калия, г	0,5 (5 мМ)	0,5 (5 мМ)
Поливинилпирролидон, г	0,3 (8,3 мМ)	0,3 (8,3 мМ)
Протамина сульфат, г	0,032 (3,27 мМ)	0,032 (3,27 мМ)
Трегалоза, г	0,326 (9,5 мМ)	0,459 (13,4 мМ)
Дистиллированная вода, мл	100	100

Экспериментальные разбавители представляли собой контроль с добавлением Mito-TEMPO в концентрациях 5 μM и 40 μM. Разбавители добавляли к аликвотам спермы в соотношении 1:1 и помещали в холодильную камеру (t = 5 °C) для эквилибрации на 40 мин. После этого образцы семени объемом 0,5 мл центрифугировали на скоростной центрифуге LX-165T2R (Haier Biomedical, 2022г.), при 5 ° С 1500 об/мин (214g), 10 мин и удаляли надосадочную жидкость (170 мкл). Полученные образцы равномерно распределяли по стенкам пенициллиновых флаконов, и размещали в специальный штатив. Вращение в парах жидкого азота (t =-80 ° С) проводили в течение одной минуты. По истечении данного времени флаконы опускали в жидкий азот. Оттаивание криоконсервированных образцов спермы осуществлялось в водяной бане (60 °С). Для лиофилизации образцов криоконсер-

вированной спермы использовали сублимационную сушилку (TFD-8501, ilShinbiobase Co., Ltd, Корея). Флаконы с семенем размещали в термоизоляционный футляр, стартовая температура образцов составила -150 °С, скорость повышения температуры образцов – 0,9 °С/мин. Рабочее давление вакуума в 5 мТорр достигалось за 12 мин. Образцы спермы лиофилизировали в течение 3 часов.

Регидратация семени

После лиофилизации проводили регидратацию лиофилизированного семени при комнатной температуре небольшими каплями средой LCM-GA5 (40 мг гиалуроновой кислоты на 100 мл LCM) и в течение 5 мин доводили до исходного объема спермы 0,5 мл [11].

Оценка состояния плазматических мембран сперматозоидов

Анализ состояния плазматических мембран сперматозоидов определяли с помощью флуорохрома – пропидия йодид (PI), Sigma – Aldrich, США. Метод оценки основывается на свойстве PI прочно связываться с молекулой ДНК и при этом не проникать в клетки с интактной плазматической мембраной. Суспензию клеток дважды отмывали, доводили до концентрации 3 х 106/мл сперматозоидов, и добавляли PI до конечной концентрации 1 μM. Оценка образцов проводилась на проточном цитометре Cytoflex (Beckman Coulter, Inc.).

Оценка мембранного потенциала митохондрий

Для окрашивания митохондрий в клетках использовали тетраметилродамин (TMRE), Sigma – Aldrich, США. Плазматическая мембрана клеток проницаема для данного красителя, что позволяет ему проникая в клетку, селективно накапливаться в митохондриях и удерживаться только в интактных митохондриях благодаря трансмембранному потенциалу. Влияние внешних факторов, уменьшающих трансмембранный потенциал, характеризуется снижением накопления красителя и, как следствие, снижением интенсивности флуоресценции. Суспензию клеток дважды отмывали, доводили до концентрации 3 х 106/мл сперматозоидов и добавляли TMRE до конечной концентрации 1 мкМ. Образцы размещали в темном месте на 20 мин, при комнатной температуре, после чего производилась двойная отмывка образцов (1200 об. / мин. в течение 7 мин.) и оценка на проточном цитометре Cytoflex (Beckman Coulter, Inc.).

Оценка уровня АФК (внутриклеточного пероксида водорода)

Для детектирования внутриклеточного пероксида водорода использовали флуорохром – 2,7 - дихлорфлуоресцеина диацетат (DCFH-DA), Sigma – Aldrich, США. Этот краситель проницаем для плазматических мембран клеток и при связывании с H2O2, позволяет детектировать это соединение, путем оценки флуоресценции клеток. Суспензию клеток дважды отмывали, доводили до концентрации 3 х 106/мл сперматозоидов и добавляли DCFH-DA до конечной концентрации 4 μM. Образцы размещали в темном месте на 20 мин, при комнатной температуре, после чего производилась двойная отмывка образцов (1200 об. / мин. в течение 7 мин) и оценка на проточном цитометре Cytoflex (Beckman Coulter, Inc.).

Статистика

Для статистической обработки данных использовали приложения Micrisoft Excel 2021 и Statistica 7.0. Данные в работе представлены в виде средних значений (M) и стандартных ошибок средних (SEM). Различия оценивали по t – критерию Стьюдента и считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Первым этапом нашего исследования после получения и оценки нативных эякулятов была криоконсервация образцов спермы с контрольными и экспериментальными разбавителями (Таблица 1). Доля клеток с интактной плазматической мембраной, в зависимости от состава разбавителя, находилась в пределах от 47,25% до 63,21%, коэффициент вариации при этом составил 13,15%. Разбавители Т-20 и Т-30, не содержащие в своем составе антиоксиданты, показали мень-

шие результаты – 47,97% и 47,25% соответственно. В экспериментальных разбавителях средняя доля клеток с интактной плазматической мембраной была значительно выше и составила 53,25 %. Доля клеток, содержащих активные митохондрии, находилась в пределах от 58,7% до 74,31, коэффициент вариации составил 8,56%. Наилучшие показатели также были получены при использовании экспериментальных разбавителей (Таблица 2). Полученные данные подтверждаются работами других исследователей и свидетельствуют как о положительном влиянии Mito-TEMPO на долю активных митохондрий, так и о взаимосвязи митохондриальной активности и жизнеспособности клеток в цикле криоконсервации [5,6,7,8].

Таблица 2 – Митохондриальная активность, целостность плазматических мембран и уровень генерации внутриклеточного пероксида водорода сперматозоидов петухов в цикле криоконсервации и лиофилизации

Метод сохранения спермы и группы с разным составом разбавителя		Клетки с интактной плазматической мембраной, %	Внутриклеточный H_2O_2, %	Высокий мембранный потенциал митохондрий, %
Криоконсервация	T20	$47,97^{a}\pm0,64$	$15,51^{m}\pm1,64$	$66,99^{s}\pm3,19$
	T20MQ5	$55,85^{b}\pm1,69$	$26,75^{n}\pm3,09$	$74,31^{t}\pm2,51$
	T20MQ40	$47,86^{c}\pm6,38$	$18,02^{o}\pm2,68$	$61,77^{u}\pm0,84$
	T30	$47,25^{d}\pm2,97$	$4,62^{p}\pm1,45$	$67,99^{v}\pm4,33$
	T30MQ5	$63,21^{e}\pm1,78$	$13,64^{q}\pm6,55$	$70,58^{w}\pm7,01$
	T30MQ40	$46,15^{f}\pm11,60$	$12,16^{r}\pm3,67$	$58,70^{x}\pm2,34$
Лиофилизация	T20	$6,12^{A}\pm0,11$	$3,63^{M}\pm1,01$	$1,54^{S}\pm0,07$
	T20MQ5	$8,60^{B}\pm0,36$	$2,90^{N}\pm0,89$	$1,97^{T}\pm0,13$
	T20MQ40	$10,19^{C}\pm0,46$	$2,39^{O}\pm0,07$	$3,70^{U}\pm1,54$
	T30	$13,19^{D}\pm1,30$	$1,87^{P}\pm0,25$	$1,53^{V}\pm0,02$
	T30MQ5	$15,83^{E}\pm3,01$	$3,77^{Q}\pm2,20$	$2,75^{W}\pm0,01$
	T30MQ40	$15,23^{F}\pm1,13$	$5,92^{R}\pm4,09$	$4,67^{X}\pm0,89$

Данные представлены в виде M±SEM. ab, ae, ec, dc, pm, pn, po, pr, AB, AC, AD, AE, AF, BF, BD, ST, SW, SX, XV, XT, XS, WT, WV – $p < 0,05$

Полученные данные по качественным показателям лиофилизированных сперматозоидов с учетом состава используемых разбавителей свидетельствуют, в целом, о значительном снижении этих показателей (Табл. 2). При этом различия от использования контрольных и экспериментальных разбавителей были уже более явными. Доля клеток с интактной плазматической мембраной находилась в пределах от 6,12% до 15,83%, коэффициент вариации данного показателя составил 33,51%. Стоит отметить, что в отличие от полученных нами данных, большинство исследований по лиофилизации спермы животных констатируют долю сперматозоидов с поврежденной плазматической мембраной на уровне 99-100% [2,12,13,14], что доказывает преимущества разработанного нами протокола лиофильной сушки сперматозоидов петухов и эффективность использования митохондриально-направленных антиоксидантов в составе разбавителей. О возможности сохранения функциональной способности лиофилизированных сперматозоидов птиц свидетельствует и наличие клеток с высоким митохондриальным потенциалом, их доля находилась в пределах от 1,53% до 4,67%, коэффициент вариации – 47,39%. Высокий показатель вариабельности по этому показателю при использовании разных концентраций Mito-TEMPO в составе разбавителя говорит о большом

влиянии митохондриального антиоксиданта на активность митохондрий в цикле лиофилизации спермы. Поскольку возможности сперматозоидов многих видов животных и птицы синтезировать антиоксиданты ограничена, большая их часть содержится в семенной плазме и в основном состоит из ферментов [15,16]. Цикл криоконсервации и лиофилизации индуцирует образование избыточного количества АФК подавляя работу этих клеточных защитных механизмов [17].

При оценке всего массива полученных данных по показателям митохондриальной активности клеток и доли клеток с интактной плазматической мембраной был рассчитан коэффициент корреляции – 0,96 ($p<0,001$). Возможное объяснение данной взаимосвязи лежит в деструктивном влиянии процесса криоконсервации и лиофилизации на митохондрии клеток, которое, в свою очередь, приводит к нарушению или даже полному прерыванию митохондриальной дыхательной цепи. Это прерывание провоцирует восстановление кислорода с образованием вместо молекул воды промежуточных молекул, таких как анион супероксида, гидроксильный радикал и пероксид водорода. А особенности биохимического состава плазматических мембран сперматозоидов петухов, которые содержат большое количество ПНЖК, делают их восприимчивыми к процессу окисления [4, 15].

В настоящий момент невосстанавливающие дисахариды широко используются в качестве лиопротекторов при лиофилизации белков и липосомальных систем, а также при криоконсервации репродуктивных клеток в роли криопротекторов. Трегалоза, дисахарид, который является частично проникающим для клеточных мембран, оказывает защитное действие, связанное с осмотическим эффектом, специфическим взаимодействием с мембранными фосфолипидами и уменьшением количества повреждений клеток в результате кристаллизации льда [9,10,18]

По результатам проточной цитометрии была выявлена достоверная разница между долей клеток с интактной плазматической мембраной и высоким митохондриальным потенциалом в лиофилизированной и сперме при использовании разбавителей, в которых часть моносахаридов была заменена дисахаридом трегалозой в концентрации 13,4 мМ, в отличие от разбавителей с добавлением 9,5 мМ трегалозы. Достоверная разница между показателями наблюдалась как в контрольных, так и в экспериментальных образцах криоконсервированного и лиофилизированного семени (Таблица 2).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

По результатам проведенных исследований, повышение митохондриальной активности сперматозоидов за счет добавления экзогенного антиоксиданта Mito-TEMPO в разбавитель для семени петухов, действие которого направлено на повышение этого показателя, показало свою эффективность в его улучшении. Доля клеток с интактной плазматической мембраной в лиофилизированном семени также была выше при использовании разбавителей, содержащих антиоксидант. Добавление Mito-TEMPO в концентрации 40 μM к разбавителю позволило улучшить показатели лиофилизированной спермы в сравнении с контрольными группами, однако стоит сказать, что для криоконсервированной спермы концентрация в 5 μM была более эффективной.

Достоверная корреляция между долей сперматозоидов с интактными плазматическими мембранами и высоким мембранным потенциалом митохондрий в клетках может говорить о комплексном воздействии антиоксиданта, и указывает на перспективность стратегии повышения показателей лиофилизированной спермы для дальнейшего использования в искусственном осеменении, путем сохранения высокого мембранного потенциала митохондрий. Использование разбавителей для криоконсервации и лиофилизации с добавлением невосстанавливающего дисахарида трегалозы, доказало ее эффективность в повышении мембранного потенциала митохондрий и сохранении целостности плазматических мембран оттаянной и лиофилизированной спермы пе-

тухов. Сравнение показателей лиофилизированного семени, выявило, что использование разбавителей, в которых часть моносахаридов была заменена дисахаридом трегалозой в концентрации 13,4 мМ, показывали большую долю клеток с интактной плазматической мембраной и долю клеток с высоким митохондриальным потенциалом. Модернизация состава сред и использование трегалозы в качестве лиопротектора можно является эффективным направлением для сохранения жизнеспособных сперматозоидов петухов в состоянии ангидробиоза.

THE EFFECT OF THE MITOCHONDRIAL-DIRECTED ANTIOXIDANT MOTO-TEMPO ON THE QUALITY INDICATORS OF ROOSTER SPERM IN THE CRYOPRESERVATION AND LYOPHILIZATION CYCLE

Kurochkin A.A.* – Jr. sci. sotr. laboratories of genetics, breeding and conservation of genetic resources of farm birds; **Stanishevskaya O. I.** – Doctor of Biological Sciences, ch. sci. sotr. laboratories of genetics, breeding and conservation of genetic resources of farm birds; **Silyukova Y. L.** – Jr. scientific. sotr. laboratories of genetics, breeding and conservation of genetic resources of farm birds; **Pleshanov N.V.** – scientific. sotr. laboratories of genetics, breeding and conservation of genetic resources of farm birds.

VIZ named after Academician L. K. Ernst"

*kurochkin.anton.66@gmail.com

Financing. *The study was carried out with the support of the Russian Science Foundation, project No. 19-16-00009P.*

ABSTRACT

In reproductive technologies applied in animal husbandry, using lyophilized semen is only possible with ICSI technology, due to complete loss sperm motility. However, the anatomical structure's peculiarities and development of avian oocyte not allows use this technology. Strategies aimed at preserving kinetic apparatus of lyophilized sperm are the most relevant for birds. Increasing mitochondrial activity of cells due to its connection with energy metabolism and sperm motility may be one of the ways to solve this problem. However, similar studies on freeze-dried bird semen haven't been conducted on this moment. The present study assessed effect of mitochondria-targeted antioxidant Mito-TEMPO on viability, mitochondria's membrane potential and generation of intracellular hydrogen peroxide by rooster spermatozoa in a cryopreservation and lyophilization cycle. Proportion of cells with intact plasma membrane in lyophilized semen was higher using extenders containing an antioxidant. Addition of Mito-TEMPO at concentration of 40 μM to diluents T-20 and T-30 for the purpose of cryopreservation of semen with subsequent freeze-drying allowed to increase proportion of cells with intact plasma membrane in lyophilized semen in comparison to control diluents (6.12 ± 0.11 % versus 10.19±0.46% and 13.19±1.30% versus 15.23±1.13%, respectively, $p<0.05$). Effective concentration of Mito-TEMPO in diluents intended only for semen cryopreservation was significantly lower - 5 μM. Proportion of cells with intact plasma membrane was 47,97±0,64% versus 55,85±1,69% and 47,25±2,97% versus 63,21±1,78%, respectively, $p<0$, 05. Dose-dependent effect of trehalose in cryoprotective diluents has been proven.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Hara H. Adverse effect of cake collapse on the functional integrity of freeze-dried bull spermatozoa / Hara H., Tagiri M., Hwang I. S., Takahashi M., Hirabayasi M. // Cryobiology. 2014. Vol. 68. № 3. P. 354.

2.Martins C. F. Effects of freeze-drying on cytology, ultrastructure, DNA fragmentation, and fertilizing ability of bovine sperm / Martins C. F., Báo S. N., Dode M. N., Correa G. A., Rumpf R. // Theriogenology. 2007. Vol. 67. № 8. P. 1307.

3.Плешанов Н. В. Криоустойчивость спермы петухов в зависимости от содержания в ней липидов / Плешанов Н. В., Станишевская О. И., Силюкова Ю.Л. // Генетика и разведение животных. – 2017. – № 3. – С. 34.

4.Surai P. Polyunsaturated fatty acids, lipid peroxidation and antioxidant protection in avian semen / Surai P., Fujihara N., Speake B., Brillard J., Wishart G., Sparks N. // Asian-Australasian journal of animal sciences. 2001. Vol. 17. № 7. P. 1024.
5.Lu X. Mitochondria-targeted antioxidant Mito-Tempo improves the post-thaw sperm quality / Lu X., Zhang Y., Bai H., Liu J., Li J., Wu B. // Cryobiology. 2018. Vol. 80. P. 26.
6.Masoudi R. The mitochondria-targeted antioxidant Mito-TEMPO conserves rooster's cooled semen quality and fertility potential / Masoudi R., Asadzadeh N., Sharafi M. // Theriogenology. 2020. Vol. 156. P 236.
7.Masoudi R. Effects of freezing extender supplementation with mitochondria-targeted antioxidant Mito-TEMPO on frozen-thawed rooster semen quality and reproductive performance / Masoudi R., Asadzadeh N., Sharafi M. // Animal Reproduction Science. 2021. Vol. 225. № 106671.
8.Asadzadeh N. Fertility and flow cytometry evaluations of ram frozen semen in plant-based extender supplemented with Mito-TEMPO / Asadzadeh N., Abdollahi Z., Esmaeilkhanian S., Masoudi R. // Animal Reproduction Science. 2021. Vol. 233. № 106836.
9.Stanishevskaya O. Trehalose as a stabilizer of the lipid composition of membranes and the composition of the cytosol of frozen/ thawed rooster spermatozoa / Stanishevskaya O., Silyukova Y., Tereshina V., Yanutsevich E., Pleshanov N., Kurochkin A., Fedorova E. // Agriculture. 2023. Vol.13. № 7.
10.Stanishevskaya O. Effects of trehalose supplementation on lipid composition of rooster spermatozoa membranes in a freeze/ thaw protocol / Stanishevskaya O., Silyukova Y., Fedorova E., Pleshanov N., Kurochkin A., Tereshina V., Ianutsevich E. // Animals. 2023. Vol 13. № 6. P. 1023.
11.Stanishevskaya O. A successful protocol for achieving anhydrobiosis of Gallus Gallus Domesticus spermatozoa while maintaining their fertility IN VIVO / Stanishevskaya O., Silyukova Y., Pleshanov N., Kurochkin A., Fedorova E., Radaev A // Cryobiology. 2022. Vol. 104. P. 102.
12.Oldenhof H. Freezing-induced uptake of disaccharides for preservation of chromatin in freeze-dried stallion sperm during accelerated aging / Oldenhof H., Zhang, M., Narten K., Bigalk J., Sydykov B., Wolkers W. F., Sieme H. // Biology of reproduction. 2017. Vol. 97. № 6. P. 892.
13.Anzalone D. A. Freeze-dried spermatozoa: An alternative biobanking option for endangered species / Anzalone D. A., Palazzese L., Iuso D., Martino G., Loi P. // Animal reproduction science. 2018. Vol. 190. P. 85.
14.Palazzese L. DNA fragmentation in epididymal freeze-dried ram spermatozoa impairs embryo development / Palazzese L., Gosálvez J., Anzalone D. A., Loi P., Saragusty J. // Journal of reproduction and development. 2018. Vol. 64. № 5. P. 393.
15.Partyka A., Lukaszewicz E., Nizanski W. Effect of cryopreservation on sperm parameters, lipid peroxidation and antioxidant enzymes activity in fowl semen. // Theriogenology. – 2012. – № 77. – P. 1497-504.
16.Khan R., Laudadio V., Tufarelli V. Semen Traits and Seminal Plasma Biochemical Parameters in White Leghorn Layer Breeders. // Reproduction in Domestic Animals. – 2011. – № 47(2). – P. 190–195
17.Baumber J. The effect of reactive oxygen species on equine sperm motility, viability, acrosomal integrity, mitochondrial membrane potential, and membrane lipid peroxidation / Baumber J., Ball B., Gravance C., Medina V., Davies-Morel M. // Journal of andrology. 2000. Vol. 21. № 6. P. 895.
18.Molinia F. Effect of monosaccharides and disaccharides in Tris-based diluents on motility, acrosome integrity and fertility of pellet frozen ram spermatozoa / Molinia F., Evans G., Quintana Casares P., Maxwel W. // Animal Reproduction Science. 1994. Vol. 36. № 1-2. P. 113.

REFERENCES

1. Hara H. Adverse effect of the destruction of the cake on the functional integrity of lyophilized sperm bulls / Hara H., Tagiri M.,

Hwang I. S., Takahashi M., Hirabayashi M. // Cryobiology. 2014. Volume 68. No. 3. p. 354.
2. Martins K. F. Influence of freeze drying on cytology, ultrastructure, DNA fragmentation and fertilizing ability of cattle spermatozoa / Martins K. F., Bao S. N., Daudet M. N., Correa G. A., Rumpf R. // Theriogenology. 2007. Volume 67. No. 8. p. 1307.
3. Pleshanov N. V. Cryostability of rooster sperm depending on the content of lipids in it / Pleshanov N. V., Stanishevskaya O. I., Silyukova Yu.L. // Genetics and breeding of animals. - 2017. – No. 3. – p. 34.
4. Surai P. Polyunsaturated fatty acids, lipid peroxidation and antioxidant protection in bird semen / Surai P., Fujihara N., Speke B., Brillard J., Wishart G., Sparks N. // Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 2001. Volume 17. No. 7. p. 1024.
5. Lu H. The antioxidant Mito-Tempo aimed at mitochondria improves the quality of sperm after thawing / Lu H., Zhang Y., Bai H., Liu J., Li J., Wu B. // Cryobiology. 2018. Volume 80. Page 26.
6. Masudi R. Antioxidant Mito-TEMPO, aimed at mitochondria, preserves the quality of cooled cock sperm and fertility potential / Masudi R., Asadzade N., Sharafi M. // Theriogenology. 2020. Volume 156. Page 236.
7. Masudi R. The effect of the additive for freezing the extender with the mitochondrial antioxidant Mito-TEMPO on the quality of frozen and thawed sperm of roosters and reproductive indicators / Masudi R., Asadzade N., Sharafi M. // Science of animal reproduction. 2021. Volume 225. No. 106671.
8. Asadzade N. Evaluation of fertility and flow cytometry of frozen sheep sperm in a vegetable filler with the addition of Mito-TEMPO / Asadzade N., Abdollahi Z., Esmailkhanyan S., Masudi R. // Science of animal reproduction. 2021. Volume 233. No. 106836.
9. Stanishevskaya O. Trehalose as a stabilizer of lipid composition of membranes and cytosol composition of frozen/thawed rooster spermatozoa / Stanishevskaya O., Silyukova Yu., Tereshina V., Yanutsevich E., Pleshanov N., Kurochkin A., Fedorova E. // Agriculture. 2023. Volume 13. No. 7.
10. Stanishevskaya O. The effect of trehalose additives on the lipid composition of rooster sperm membranes in the freezing/thawing protocol / Stanishevskaya O., Silyukova Yu., Fedorova E., Pleshanov N., Kurochkin A., Tereshina V., Yanutsevich E. // Animals. 2023. Volume 13. No. 6. p. 1023.
11. Stanishevskaya O. A successful protocol for achieving anhydrobiosis of Gallus Gallus Domesticus spermatozoa while maintaining their fertility IN VIVO / Stanishevskaya O., Silyukova Yu., Pleshanov N., Kurochkin A., Fedorova E., Radaev A. // Cryobiology. 2022. Vol. 104. p. 102.
12. Oldenhof H. Freezing-induced absorption of disaccharides for chromatin preservation in lyophilized sperm of stallions with accelerated aging / Oldenhof H., Zhang M., Narten K., Bigalk J., Sydykov B., Volkers V. F., Sime H. // Biology of reproduction. 2017. Volume 97. No. 6. p. 892.
13. Ansalone D. A. Lyophilized spermatozoa: an alternative biobanking option for endangered species / Ansalone D. A., Palazzese L., Yuso D., Martino G., Loi P. // Science of animal reproduction. 2018. Volume 190. p. 85.
14. Palazzese L. DNA fragmentation in epididymal sublimated sheep spermatozoa worsens embryo development / Palazzese L., Gosalves J., Ansalone D. A., Loi P., Saragusti J. // Journal of Reproduction and Development. 2018. Volume 64. No. 5. p. 393.
15. Partika A., Lukashevich E., Nizansky V. The effect of cryopreservation on sperm counts, lipid peroxidation and the activity of antioxidant enzymes in poultry sperm. // Theriogenology. - 2012. – No. 77. – pp. 1497-504.
16. Khan R., Laudadio V., Tufarelli V. Signs of sperm and biochemical parameters of seminal plasma in producers of the White Leghorn breed. // Reproduction in domestic animals. – 2011. – № 47(2). – Pp. 190-195
17. Baumber J. The influence of reactive oxygen species on mobility, viability, integrity of acrosomes, mitochondrial membrane potential and lipid peroxidation of membranes / Baumber J., Ball B., Gravans S., Medina V., Davis-Morel M. // Journal of Andrology. 2000. Volume 21. No. 6. p. 895.
18. Molinia F. Influence of monosaccharides and disaccharides in Tris-based diluents on mobility, acrosome integrity and fertility of sheep sperm frozen in granules / Molinia F., Evans G., Quintana Casares P., Maxwell V. // Science of Animal Reproduction. 1994. Vol. 36. No. 1-2. p. 113.

УДК: 636.01/5:636.5:636.082:636.018
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.379

ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН СПЕРМАТОЗОИДОВ ПЕТУХОВ (*GALLUS GALLUS DOMESTICUS*) И ЕГО ДИНАМИКА В ПРОЦЕССЕ КРИОКОНСЕРВАЦИИ

Станишевская О.И. – д-р биол. наук, гл. науч. сотр., зав. лабораторией генетики, разведения и сохранения генетических ресурсов сельскохозяйственных птиц (ORCID 0000-0001-9504-3916); **Силюкова Ю.Л. –** мл. науч. сотр. лаборатории генетики, разведения и сохранения генетических ресурсов сельскохозяйственных птиц (ORCID 0000-0003-1905-6373).

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста».

**olgastan@list.ru*

Ключевые слова: *криоконсервация, сперматозоиды, петухи, разбавитель для семени, липиды плазматической мембраны, цитозоль, трегалоза.*

Key words: *cryopreservation, spermatozoa, roosters, semen extender, plasma membrane lipids, cytosol, trehalose*

Финансирование*. Данное исследование было проведено при поддержке Российского научного фонда, проект № 19-16-00009Р.*

Поступила: 05.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Особенности строения плазматических мембран сперматозоидов птиц делает их более чувствительными, по сравнению с таковыми млекопитающих, к низкотемпературному стрессу. Качественный и количественный состав липидов мембран может стать определяющим фактором при разработке новых эффективных составов криозащитных сред. Целью исследования было определить липидный состав плазматических мембран нативных сперматозоидов петухов, содержание углеводов и полиолов в составе их цитозоля, а также динамические изменения липидома мембран и состава цитозоля в процессе криоконсервации в зависимости от состава криозащитной среды. Исследования проведены на петухах породы род-айланд (n=10), определяли общую и прогрессивную подвижность сперматозоидов, поврежденность мембран. Замораживание и оттаивание семени осуществлялось по fast-протоколам. Для определения липидного состава плазматических мембран сперматозоидов и состава их цитозоля использовали метод хроматографического анализа. В составе мембран нативных сперматозоидов идентифицировали: фосфолипиды, гликолилпиды и нейтральные липиды, представленные фосфатидилэталомином, фосфатидилсерином, фосфатидилхолином, сфингомиелином и стеролом. Показано изменение соотношения между мембранными липидами внутреннего и наружного слоев плазматической мембраны сперматозоидов петухов в процессе крио-

консервации. У нативных сперматозоидов это соотношение составило 41,2% и 39,4% соответственно, у оттаянных сперматозоидов при использовании среды ЛКС-контроль – 38,3% и 47,2% соответственно, при использовании среды ЛКС-Т20 – 40,7% и 44,5% соответственно. Отмечено значительное снижение, более чем в 3 раза, общей суммы углеводов (фруктоза, глюкоза, трегалоза) и полиолов (глицерин, маннит, инозитол) в цитозоле заморожено/оттаянных сперматозоидов при использовании криопротекторной среды ЛКС-контроль по сравнению со значениями нативного семени - 0,1145 мг/мл и 0,0360 мг/мл соответственно. При использовании среды ЛКС-Т20 изменение было незначительным, и дельта составила 5,2%. Доказана эффективность использования криозащитной среды ЛКС-Т20, содержащей трегалозу, для поддержания в процессе замораживания/оттаивания липидной мембранной архитектуры сперматозоидов петухов, углеводно-полиольного состава их цитозоля и, как следствие, морфофункциональной полноценности гамет.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Для совершенствования существующих технологий замораживания семени сельскохозяйственных птиц необходимо понимание тонких морфологических и физико-химических деструктивных изменений, происходящих в клетке под влиянием замораживания/оттаивания. Знание наиболее «уязвимых мест» позволит более эффективно подбирать композиционный состав криозащитных сред. Показатель целостности плазматических мембран сперматозоида является основным индикатором в определении жизнеспособности семени в протоколе замораживания/оттаивания. Сперматозоиды – это высокоспециализированные клетки с предельно низким внутриклеточным объемом цитозоля и специфическим строением плазматических мембран, липидный состав которых отличается высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), стеринов, фосфатидилхолинов (ФХ) и сфингомиелинов (СМ), играющих важную роль при взаимодействии между сперматозоидами и яйцеклеткой [1]. На основе изучения криорезистентности генеративных клеток в протоколе замораживания/оттаивания, в основном на млекопитающих, определены такие критически значимые для сохранения морфофункциональной полноценности факторы, как изменение состава цитозоля сперматозоидов и липидного состава плазматических мембран. В соответствии с принципом жидкостно-мозаичной модели, который лежит в основе современной гипотезы строения плазматических мембран, архитектоника мембран клеток представляет собой сложную композицию, включающую в себя обширные классы липидов (фосфолипиды, холестерин и гликолипиды) [2]. Качественный и количественный состав липидов мембран может стать определяющим фактором при разработке составов криозащитных сред на основе изучения взаимодействия компонентов сред с молекулами липидов плазматической мембраны сперматозоидов. Так, например, при изучении липидомного состава заморожено/оттаянных сперматозоидов у *Bos taurus taurus* было отмечено повышение концентрации свободного холестерина, свободных жирных кислот, триацилглицерина и эфиров холестерина относительно показателей нативных спермиев, и отмечена их связь со снижением подвижности и фертильности сперматозоидов в результате повреждения их мембран [3]. Сложное строение плазматической мембраны сперматозоидов петухов, липиды которой отличаются повышенным содержанием полиненасыщенных жирных кислот, делающим клетку особенно восприимчивой к окислительному стрессу (в отличие от таковой млекопитающих), мало представлено в литературных источниках.

Выбор криопротектора при разработке состава криозащитной среды во многом определяется степенью его токсичности и проявляющимися стабилизационными свойствами. Наиболее подходящими, с этой точки зрения, являются вещества, синтезируемые живыми организмами, в норме подвергающимися стрессовому

воздействию температурных факторов или обезвоживанию. Трегалоза, по данным многочисленных исследований, является в этом плане уникальным веществом. В наших предыдущих исследованиях представлены результаты по успешному использованию криопротекторных сред с содержанием трегалозы для повышения оплодотворяющей способности заморожено/оттаянного семени петухов [4]. По данным Корольковой и др. (2020) дисахарид трегалоза в протоколе замораживания/оттаивания выполняет роль стабилизатора белков и фосфолипидов липидного бислоя клеток посредством образования водородных связей, что является важным механизмом обеспечения устойчивости липидных бислоев [5]. Опубликованы исследования по моделированию взаимодействия трегалозы с бислоями, где было подтверждено образование множественных водородных связей молекул трегалозы с липидами модельных мембран [6,7].

Целью исследования было определить липидный профиль плазматических мембран и углеводно-полиольный состав цитозоля сперматозоидов петухов и их динамику под влиянием состава криозащитной среды в процессе криоконсервации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объект исследования. Для экспериментов использовали сперму петухов породы красный род-айланд из Центра коллективного пользования «Генетическая коллекция редких и исчезающих пород кур», ВНИИГРЖ. Экспериментальное поголовье содержалось в индивидуальных клетках в соответствии с утвержденной технологией. Использовали эякуляты, полученные от петухов (n=10) в возрасте 52-56 нед. жизни, половая нагрузка составляла 2-3 дня в неделю. Все эякуляты оценивали индивидуально по следующим критериям: объем (мл); концентрация (млрд/мл, фотометр Accuread, Великобритания); общая подвижность сперматозоидов (%, CASA АргусСофт. Россия; Motic BA410E, Китай). Полученные эякуляты объединяли и делили на 2 части: добавляли криозащитную среду 1 часть – ЛКС-контроль [8], 2 часть – ЛКС-Т20 [9] в соотношении 1:1. Замораживали в гранулах по протоколу, описанному Станишевской и др. (2023) [9]. Хранили замороженное семя в сосудах Дьюара в течение 30 дней. Оттаивали с использованием щелевого оттаивателя при температуре 60°С (разработка, ВНИИГРЖ 1989).

Оценка семени. Объединенные и заморожено/оттаянные эякуляты оценивали по жизнеспособности (%, окрашивание эозин/нигрозин [10], 3 повторности), поврежденность акросом (%, окрашивание Кумасси синий R250 [11], 3 повторности), общую и прогрессивную подвижность сперматозоидов (%, CASA ПО АргусСофт, СПб, Россия, 2020, Motic BA410E, Китай, 2019).

Образцы семени для хроматографии. Эякуляты объединяли, объединенный объем семени составлял не менее 10-12 мл, делили на 3 части и разбавляли: 1 – нативное неразбавленное, 2 – ЛКС-контроль, 3 – ЛКС-Т20 в соотношении 1:1. Охлаждали до температуры 5ºС; центрифугировали 10 мин ^{x} 3000 об/мин. Удаляли надосадочную жидкость, промывали 0,9% HCl, процедуру повторяли трижды. Конечный центрифугат семени собирали на капроновый фильтр и осаждали еще 30 минут. Образцы центрифугатов и надосадочной жидкости замораживали и хранили при -25°С.

Анализ растворимых углеводов цитозоля и мембранных липидов сперматозоидов. Липиды и углеводы анализировали, как описано ранее [9,12].

Статистические методы. Для статистической обработки использовали пакет средств анализа данных MS Excel 2013 (США), данные представленыв виде MEAN± SE. Различия считали значимыми при p <0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Процесс замораживания/оттаивания оказывает значительное негативное влияние на морфофункциональные показатели сперматозоидов, что выражается в снижении показателей подвижности почти в 2

раза. При этом количество сперматозоидов с поврежденной мембраной после оттаивания увеличилось с 9,6% до 62,0%, а поврежденность акросом – с 0,7% до 61,9 % (таблица 1).

Состав криозащитной среды не оказал значимого влияния на показатели общей и прогрессивной подвижности оттаянных сперматозоидов петухов. Однако, трегалоза в концентрации 9,5mM в составе разбавителя ЛКС-Т20 позволила достоверно ($p < 0,05$) снизить уровень поврежденности плазматических мембран замороженно/оттаянных сперматозоидов и снизить показатель поврежденности акросом сперматозоидов на 3,1% (таблица 1).

Для определения состава липидов плазматических мембран нативных и замороженно/оттаянных сперматозоидов и его динамики был проведен хроматографический анализ. В качестве основных липидов плазматических мембран сперматозоидов идентифицировали фосфолипиды, гликолилипиды и нейтральные липиды; липидный профиль представлен фосфатидилэталомином, фосфатидилсе-

Таблица 1 – Показатели качества семени петухов до и после замораживания (n♂=10)

Показатели оценки объединенных эякулятов	Нативное семя	Замороженно/оттаянное	
		ЛКС-контроль	ЛКС-Т20
Общая подвижность, %	86,3±0,04	42.7±0,7	43,2±1,1
Прогрессивная подвижность, %	65,7±0,14	24,3±2,6	27,6±2,1
Поврежденность мембран, %	9,6±0,01	62,0 [a] ±7,7	57,8[b] ±1,7
Поврежденность акросом, %	0,7 ±0,01	61,9±6,1	58,8±3,2

[a.b] $p < 0,05$

Таблица 2 – Состав липидов плазматических мембран нативных и замороженно/оттаянных сперматозоидов петухов

Липидный состав мембран сперматозоидов	Нативная сперма	Оттаянная сперма	
		ЛКС-контроль	ЛКС-Т20
	% от сухой биомассы		
фосфатидилэталомин (ФЭ)	3,5	4,1	2,0
фосфатидилсерин (ФС)	2,3	3,8	2,0
фосфатидилхолин (ФХ)	4,2	6,7	2,9
сфингомиелин (СМ)	1,3	3,1	1,4
гликолипид (ГЛ)	0,3	0,3	0,1
кардиолипин (КЛ)	0,1	0,1	0,0
сульфогликолипид (СФЛ)	0,5	0,5	0,3
стерол (СТ)	1,9	2,1	1,0
	% от Σ липидов		
фосфатидилэталомин (ФЭ)	24,8	20,0	20,6
фосфатидилсерин (ФС)	16,4	18,3	20,1
фосфатидилхолин (ФХ)	30,0	32,2	30,3
сфингомиелин (СМ)	9,4	15,0	14,1
гликолипид (ГЛ)	2,0	1,2	1,4
кардиолипин (КЛ)	0,4	0,4	0,0
сульфогликолипид (СФЛ)	3,5	2,6	2,7
стерол (СТ)	13,5	10,4	10,7

рином, фосфатидилхолином, сфингомиелином и стеролом.

Ответом на стресс, вызванный протоколом замораживания/оттаивания, является перестройка мембранных связей сперматозоидов за счет изменения соотношения не только основных (ФЭ, ФС, ФХ, СМ и СТ), но и изменения минорных липидов (ГЛ, КЛ, СГЛ). Известно, что изменения в соотношении глицерин-фосфолипид-холестерин играют существенную роль в саморегуляции мембран сперматозоидов, связанной с криотолерантностью [13, 14]. Соотношение липидов плазматических мембран может быть постулатом для общей основы прогнозируемых криоповреждений сперматозоидов.

Липиды, относящиеся, по литературным данным, к внутреннему слою плазматической мембраны – фосфатилилсерин и фосфатидилэталомин, у сперматозоидов нативного семени суммарно составили 41,2% от общего количества липидов, а липиды наружного слоя – фосфатидилхолин и сфингомиелин – 39,4% (таблица 2). В протоколе замораживания/оттаивания (среда ЛКС-контроль) этот показатель составил 38,3% и 47,2% соответственно. Таким образом, показано изменение соотношения между мембранными липидами внутреннего и наружного слоев под влиянием протокола замораживания/оттаивания. При использовании криопротекторной среды ЛКС-Т20 это соотношение составляло 40,7% и 44,5% соответственно. Нами отмечено, что наиболее значимое влияние протокола замораживания/оттаивания сперматозоидов было оказано на липиды, относящиеся к внешнему слою плазматической мембраны, но это изменение было менее выражено при использовании криозащитной среды ЛКС-Т20, содержащей дисахарид трегалозу. Таким образом, было получено объяснение экзоцеллюлярного действия трегалозы в протоколе криоконсервации сперматозоидов петухов. Кроме того, было установлено изменение соотношения холестерин/фосфолипиды в составе плазматических мембран под влиянием процесса криоконсервации. Это соотношение в плазматических мембранах сперматозоидов нативного семени составляло 0,166, а после деконсервации – 0,121 и 0,126 в зависимости от состава криопротекторной среды (ЛКС-контроль и ЛКС-Т20 соответственно). Эти результаты согласуются с результатами исследований Longobardi V. et al. (2017), полученных на Bubalus bubalis, что низкотемпературный стресс индуцирует изменение соотношения холестерин-фосфолипиды в плазматических мембранах сперматозоидов, приводящее к криокапацитации и преждевременной акросомной реакции в размороженных сперматозоидах [15].

Для определения состава углеводов и полиолов в цитозоле сперматозоидов петухов под влиянием используемых криозащитных сред и протокола криоконсервации, проведен хроматографический анализ; идентифицировали углеводы – фруктозу, глюкозу, трегалозу и полиолы -- глицерин, маннит, инозит. Были получены результаты, показывающие динамическое изменение в составе цитозоля, что выражалось в резком увеличении содержания глицерина в расчете от общей суммы углеводов и полиолов (среда ЛКС-контроль) – почти в 8 раз, с 3,9% до 30,8% (табл. 3).

Отмечено значительное (более чем в 3 раза) снижение общей суммы углеводов и полиолов замороженно/оттаянных сперматозоидов при использовании криопротекторной среды ЛКС-контроль по сравнению со значением нативного семени - 0,1145 мг/мл и 0,0360 мг/мл соответственно (табл. 3). При использовании криопротекторной среды ЛКС-Т20, содержащей трегалозу, это изменение составило лишь 5,2%, по сравнению с нативным семенем. Было обнаружено содержание трегалозы в цитозоле замороженно/оттаянных сперматозоидов в концентрации 0,0495 мг/мл, что говорит о возможности транспортировки дисахарида через мембраны клетки, несмотря на характеристики трегалозы как непроникающего криопротекторного агента [16].

Таблица 3 – Состав углеводов и полиолов цитозоля нативных и заморожено/оттаянных сперматозоидов петухов породы род-айланд

Углеводы и полиолы цитозоля		Нативная сперма	Оттаянная сперма	
			ЛКС-контроль	ЛКС-Т20
мг/мл	глицерин	0,0045	0,011	0,0095
	фруктоза	0,012	0,010	0,0275
	глюкоза	0,0005	0,001	0,0045
	маннит	0,002	0,000	0,000
	инозит	0,095	0,0135	0,0175
	трегалоза	отсутствует	отсутствует	0,0495
Σ углеводов и полиолов, мг/мл		0,1145	0,0360	0,1085
% от Σ	глицерин	3,9	30,8	8,65
	фруктоза	59,05	27,95	25,45
	глюкоза	0,55	1,9	4,3
	маннит	2,05	1,15	0,05
	инозит	83,0	38,2	16,15
	трегалоза	отсутствует	отсутствует	45,4

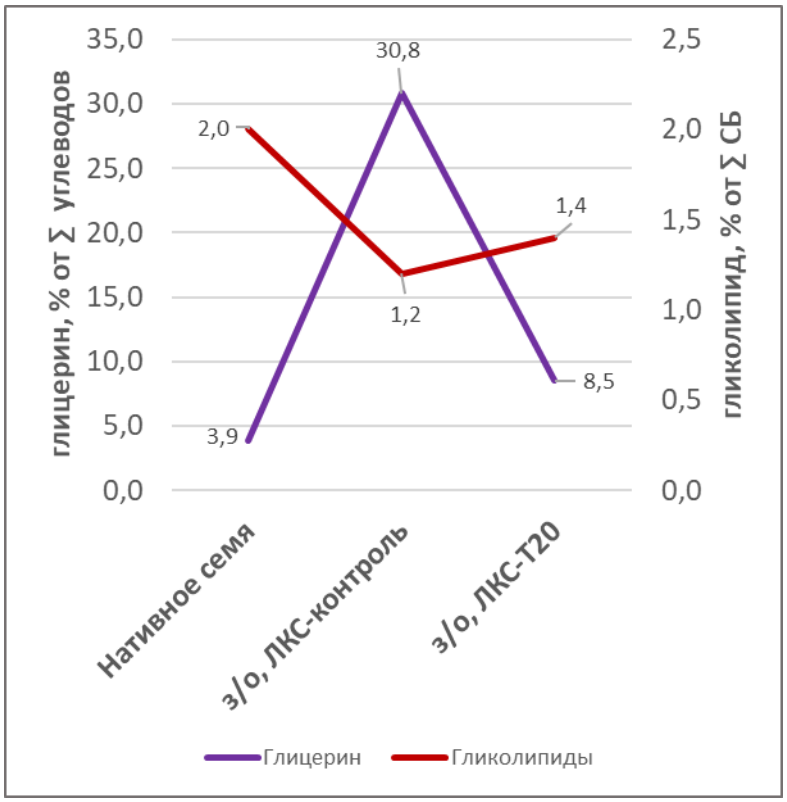


Рисунок 1 – Схема соотношения гликолипидов и глицерола сперматозоидов петухов под влиянием протокола криоконсервации семени.

Полученные в результате хроматографического анализа липидома мембран и состава цитозоля сперматозоидов данные (рис. 1) свидетельствуют о том, что состав криозащитного разбавителя оказал значимое влияние на соотношение гликолипидов и глицерина в составе клеточных структур оттаянных сперматозоидов. Вероятно, что снижение количества гликолипидов в составе плазматической мембраны сперматозоидов, при использовании среды ЛКС-контроль, является результатом их частичного разрушения, что вызвало резкое повышение в цитозоле уровня высвободившегося глицерина. Использование среды ЛКС-Т20 смягчает повреждающее действие температурного стресса на клеточные структуры.

ВЫВОДЫ / CONCLUSIONS

Определено, что под влиянием протокола криоконсервации сперматозоидов петухов углеводно-полиольный состав цитозоля может быть весьма подвижен, как в части компонентного состава, и в части количественного соотношения, что приводит к изменению криорезистентности сперматозоидов петухов в различной степени, в зависимости от состава криопротекторных сред. В углеводном составе цитозоля оттаянных сперматозоидов при использовании среды ЛКС-Т20 отмечено присутствие трегалозы. Этот факт впервые доказывает возможность транспорта молекул этого дисахарида через плазматическую мембрану и перспективу использования трегалозы в качестве криопротектора как экзо-, так и эндоцеллюлярного действия. Механизмом такого транспорта, вероятно, является простая диффузия молекул через аквапорины [17], поскольку трегалозе свойственна устойчивая связь с молекулами воды. Кроме того, многократное снижение содержания инозитола в составе цитозоля оттаянных сперматозоидов в 7 и 5,5 раз, в зависимости от использованного криозащитного разбавителя, говорит о присутствии множественных внутриклеточных окислительных реакций.

При изучении динамики липидного состава плазматических мембран сперматозоидов петухов в цикле замораживания/оттаивания установлена роль состава криозащитной среды в поддержании стабильности липидной мембранной архитектуры. Использование новой среды, содержащей трегалозу (ЛКС-Т20), обеспечивает лучшую защиту липидома плазматических мембран сперматозоидов по сравнению со средой ЛКС-контроль.

LIPID COMPOSITION OF PLASMA MEMBRANES OF ROOSTER SPERMATOZOA (GALLUS GALLUS DOMESTICUS) AND ITS DYNAMICS UNDER THE INFLUENCE OF THE CRYOPRESERVATION PROTOCOL

Stanishevskaya O.I. – Dr. Habil (Biol. Sci.), Head of the Laboratory of Genetics, Breeding and Conservation of the Genetic Resources of Farm Birds; **Silyukova Y.L.** – Junior Researcher, Laboratory of Genetics, Breeding and Conservation of the Genetic Resources of Farm Birds.

Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding — Branch of the L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry

*olgastan@list.ru

Financing. *This research was carried out with the support of the Russian Science Foundation, project No. 19-16-00009P.*

ABSTRACT

The structural features of the plasma membranes of avian sperm make them more sensitive, compared to those of mammals, to low-temperature stress. The qualitative and quantitative composition of membrane lipids can become a determining factor in the development of new effective compositions of cryoprotective media. The purpose of the study was to determine the lipid composition of the plasma membranes of native rooster sperm, the content of carbohydrates and polyols in their cytosol, as well as dynamic changes in the membrane lipidome and cytosol composition under the influence of the cryopreservation protocol, depending on the composition of the cryoprotective medium. The studies were carried out on Rhode Island roosters (n=10), the total and progressive sperm motility and membrane damage

were determined. Semen freezing and thawing was carried out using fast protocols. To determine the lipid composition of the plasma membranes of sperm and the composition of their cytosol, a chromatographic analysis method was used. The following were identified in the membranes of native spermatozoa: phospholipids, glycolyllipids and neutral lipids, represented by phosphatidylethalamine, phosphatidylserine, phosphatidylcholine, sphingomyelin and sterol. A change in the ratio between membrane lipids of the inner and outer layers of the plasma membrane of rooster spermatozoa under the influence of the cryopreservation protocol was shown. In native spermftozoa this ratio was 41.2% and 39.4%, respectively, in thawed sperm when using the LCM-control medium – 38.3% и 47.2%, respectively, when using the LCM-T20 medium - 40.7% and 44.5%, respectively. There was a significant decrease, more than 3 times, in the total amount of carbohydrates (fructose, glucose, trehalose) and polyols (glycerol, mannitol, inositol) in the cytosol of frozen/thawed spermatozoa when using the cryoprotective medium LCM-control compared with the values of the native spermatozoa - 0 .1145 mg/ml and 0.0360 mg/ml, respectively. When using the LCM-T20 medium, the change was insignificant and the delta was 5.2%. The effectiveness of using cryoprotective medium LCM-T20 containing trehalose has been proven to maintain the lipid membrane architecture of rooster spermatozoa, the carbohydrate-polyol composition of their cytosol and, as a consequence, the morphofunctional usefulness of gametes during the freezing/thawing process.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Vireque A.A. Effects of n-6 and n-3 polyunsaturated acid-rich soybean phosphatidylcholine on membrane lipid profile and cryotolerance of human sperm / A.A. Vireque, A. Tata, O.F. Silva, E.G. LoTurco, A. Azzolini, C.R. Ferreira, M.H. Dantas, R.A. Ferriani, R.M. Reis // Fertility and sterility. – 2016. – Т. 106. – №. 2. – С. 273-283.
2. Кузнецов В.И. Липиды в структуре и функционировании биологических мембран / В.И. Кузнецов, В.В. Моррисон, О.Б. Лиско, Т.Д. Царева, Д.А. Сретенская, И.Б. Гаврилова, О.А. Хлебожарова // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2014. – Т. 10. – №. 2. – С. 262-266.
3. Mandal R. Role of membrane lipid fatty acids in sperm cryopreservation / R. Mandal, D. Badyakar, J. Chakrabarty // Advances in Andrology. – 2014. – Т. 2014.
4. Stanishevskaya O. Effects of saccharides supplementation in the extender of cryopreserved rooster (Gallus gallus domesticus) semen on the fertility of frozen/thawed spermatozoa / O. Stanishevskaya, Y. Silyukova, N. Pleshanov, A. Kurochkin, E. Fedorova, Z. Fedorova, O. Perinek, A. Prituzhalova, I. Meftakh // Animals. – 2021. – Т. 11. – №. 1. – С. 189.
5. Королькова Т.Н., Амбарцумян Л.Л., Шепилова И.А. Роль трегалозы в продолжительности клинического эффекта биоревитализантов //Клиническая дерматология и венерология. – 2020. – Т. 19. – №. 2. – С. 240-248.
6. Sum A.K. Molecular simulation study of phospholipid bilayers and insights of the interactions with disaccharides / A.K. Sum, R. Faller, J.J. de Pablo //Biophysical journal. – 2003. – Т. 85. – №. 5. – С. 2830-2844.
7. Maiti A., Daschakraborty S. Unraveling the Molecular Mechanisms of Trehalose-Mediated Protection and Stabilization of Escherichia coli Lipid Membrane during Desiccation //The Journal of Physical Chemistry B. – 2023. – Т. 127. – №2. – С. 4496-4507.
8. Целютин К. В., Тур Б. К. Искусственное осеменение и криоконсервация спермы сельскохозяйственной птицы (петухи, индюки, гусаки, селезни) //СПб.-Пушкин: ГНУ ВНИИГРЖ Россельхозакадемии. – 2013.
9. Stanishevskaya O.I. Effects of Trehalose Supplementation on Lipid Composition of Rooster Spermatozoa Membranes in a Freeze/Thaw Protocol / O.I. Stanishevskaya, Y. Silyukova, E. Fedorova, N. Pleshanov, A. Kurochkin, V.M. Tereshina, E. Ianutsevich // Animals. – 2023. – Т. 13. – №. 6. – С. 1023.
10. Pintado B. Permeability of boar and bull spermatozoa to the nucleic acid stains pro-

pidium iodide or Hoechst 33258, or to eosin: accuracy in the assessment of cell viability / B. Pintado, J. de la Fuente, E.R. Roldan // Journal of Reproduction and Fertility. – 2000. – Т. 118. – №. 1. – С. 145-152.
11. Feng H. L. Impact of Ca2+ flux inhibitors on acrosome reaction of hamster spermatozoa / H.L. Feng, Y.B. Han, A. Hershlag, I.J.Zheng //Journal of andrology. – 2007. – Т. 28. – №. 4. – С. 561-564.
12. Януцевич Е. А. Мембранные липиды и углеводы цитозоля у Aspergillus niger в условиях осмотического, окислительного и холодового воздействий / Е.А. Януцевич, О.А. Данилова, Н.В. Гроза, В.М. Терешина //Микробиология. – 2016. – Т. 85. – №. 3. – С. 283-292.
13. Moore A.I. Adding cholesterol to the stallion sperm plasma membrane improves cryosurvival / Moore A.I., Squires E.L., Graham J.K.// Cryobiology. – 2005. – Т. 51. – №. 3. – С. 241-249.
14. Hezavehei M. Membrane lipid replacement with nano-micelles in human sperm cryopreservation improves post-thaw function and acrosome protein integrity / M. Hezavehei, M. Sharafi, R. Fathi, A. Shahverdi, M.A.S. Gilani // Reproductive BioMedicine Online. – 2021. – № 43(2). – С. 257–268.
15. Longobardi V. Cholesterol-loaded cyclodextrins prevent cryocapacitation damages in buffalo (Bubalus bubalis) cryopreserved spermм / V. Longobardi, G. Albero, C. De Canditiis, A. Salzano, A. Natale, A. Balestrieri, G. Neglia, G. Campanile, B. Gasparrini // Theriogenology. – 2017. – № 89. – С. 359-364.
16. Chen T. Beneficial effect of intracellular trehalose on the membrane integrity of dried mammalian cells / T. Chen, J. P. Acker, A. Eroglu, S. Cheley, H. Bayley, A. Fowler, M. Toner // Cryobiology. – 2001. – Vol. 43. – p. 168–181.
17. Delgado-Bermúdez A. Aquaporins are essential to maintain motility and membrane lipid architecture during mammalian sperm capacitation / A. Delgado-Bermúdez, S. Recuero, M. Llavanera, Y. Mateo-Otero, A. Sandu, I. Barranco, J. Ribas-Maynou, M. Yeste //Frontiers in Cell and Developmental Biology. – 2021. – № 9. – С. 656438.

УДК: 636.2.034: 612.12:612.63
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.388

ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ β-ГИДРОКСИБУТИРАТА И ГЛЮКОЗЫ В КРОВИ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ И МОЛОЧНУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ КОРОВ

Николаев С.В.* – канд. ветеринар. наук, науч. сотр. (ORCID 0000-0001-5485-4616).

*semen.nikolaev.90@mail.ru

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

***Ключевые слова**: крупный рогатый скот, глюкоза, кетоновые тела, воспроизводительная функция, молочная продуктивность.*
***Keywords:** cattle, glucose, ketone bodies, reproductive function, milk productivity.*

Поступила: 02.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023

РЕФЕРАТ

Интенсивность обменных процессов у высокопродуктивных животных ассоциируется с метаболическими нарушениями и развитием дистрофических изменений в организме. В работе проведена оценка влияния концентрации β-гидроксибутирата и глюкозы в крови новотельных коров на показатели воспроизводительной способности и молочную продуктивность. Для анализа от разновозрастных животных после родов получали венозную кровь, где определяли концентрацию глюкозы и β-гидроксибутирата. В зависимости от уровня глюкозы и кетоновых тел, животных ретроспективно дифференцировали на группы и изучали выраженность хозяйственно-полезных признаков. Установлено, что у коров с уровнем глюкозы выше 3,3 ммоль/л требовалось на 0,6 осеменений больше (P≤0,01), по сравнению с животными, чьи показатели находились в пределах 2,2…3,3 ммоль/л. При этом наибольшая разница в кратности осеменений присутствовала у животных 3…7 лактации (1,2 осеменения на оплодотворение; P≤0,001). Период от отела до оплодотворения у коров с повышенным содержанием глюкозы был продолжительнее на 39,4 дня (P≤0,05), при этом максимальное отклонение установлено среди животных старше 2-й лактации (удлинение на 49,3 дня; P≤0,05). Повышение уровня β -гидроксибутирата более 0,7 ммоль/л так же сопровождалось ухудшением воспроизводительной функции. Так, удлинение периода бесплодия по всем лактациям составило 21,2 дня (P≤0,05). Наиболее выраженное негативное воздействие на репродуктивную функцию при кетонемии отмечено у первотелок и коров второй лактации. Так, после первых родов удлинение периода от отела до оплодотворения составило 42,0 дня (P≤0,05), а по второй лактации – 29,2 дня (P≤0,05). Таким образом, увеличение уровня глюкозы и β-гидроксибутирата в крови негативно сказывается в первую очередь на воспроизводительной функции, и в меньшей степени на показателях молочной продуктивности.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Современное молочное скотоводство характеризуется существенным ростом продуктивности животных. Генетически обусловленный потенциал маточного поголовья требует соответствий условий кормления и содержания, а так же максимальной активизации обменных процессов в организме [7,9]. В первую очередь, интенсивный лактогенез ассоциирован с высокой потребностью животного в энергии, дефицит которой негативно сказывается на процессах метаболизма и зачастую может стать причиной развития различных патологий, снижения воспроизводительной способности и молочной продуктивности [1,6].

Одним из маркеров оценки энергетического обмена является определение в крови уровня глюкозы, как основного источника «быстрой» энергии для организма [8,11]. Показано, что у животных с овариальной недостаточностью наблюдается дефицит глюкозы в первые два месяца лактации [7,11,12]. В месте с тем, установлено, что при некоторых патологических состояниях уровень данного метаболита может находится в норме или наоборот быть повешенным [2,3]. Так у голштинского скота была показана предрасположенность к инсулинорезистентности и нарушению толерантности к глюкозе, которая характеризуется невозможностью тканей организма эффективно поглощать и использовать глюкозу, циркулирующую с кровотоком [4,6].

Еще одним из маркеров энергетического обмена можно считать содержание в крови кетоновых тел. Кетоновые тела (ацетон, ацетоуксусная и β-гидроксимасляная кислота) главным образом являются источником энергии для мускулатуры и нервной системы, однако их интенсивный синтез и накопление в организме (кетонемия) приводят к дистрофическим изменениям в тканях и эндогенной интоксикации [5,8]. Рост уровня кетоновых тел в крови у коров, как правило, наблюдается к моменту окончания стельности и в начале лактации, что обусловлено увеличением потребности организма в энергии и получении ее из альтернативных источников [13, 14]. Поэтому мониторинг уровня кетоновых тел в данный физиологический период является важным элементом оценки напряженности метаболизма.

Цель исследований – изучить влияние концентрации β-гидроксибутирата и глюкозы в крови новотельных коров на показатели воспроизводительной способности и молочную продуктивность.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проведены в 2021-2023 году на молочно-товарной ферме ЗАО «Заречье» 2-е отделение «Заря» Куменского района Кировской области, специализирующейся на разведении голштинизированного черно-пестрого скота со средней продуктивностью 7…8 тыс. кг молока в год. Для проведения экспериментальной работы перед утренним кормлением на 7-е; 14-е и 21-е сутки после родов от разновозрастных коров из хвостовой вены получали венозную кровь, в которой *ex tempore* определяли концентрацию глюкозы и β-гидроксибутирата. Содержание кетонов и сахара крови устанавливали с помощью прибора CentriVet. Полученные в указанные временные промежутки значения суммировали и находили среднее арифметическое, после чего животных дифференцировали по группам, в зависимости от концентрации определяемых веществ и возраста лактаций. Ретроспективно у животных учитывали кратность осеменений на оплодотворение, продолжительность бесплодия, удой за первые 100 дней, 305 дней и всю лактацию, коэффициент устойчивости и продолжительность лактации. Всего проанализированы данные полученные от 465 животных.

При оценке влияния уровня глюкозы в послеродовом периоде на показатели хозяйственно-полезных признаков, коров разделили на 2 группы. В первую вошли животные с физиологически нормальным уровнем глюкозы (2,2…3,3 ммоль/л) [10], во вторую – с содержанием выше 3,3 ммоль/л. Влияние кетоновых тел на се-

лекционные признаки определяли при концентрации уровня β-гидроксимасляной кислоты 0,7 ммоль/л и ниже (1группа), а также выше 0,7 ммоль/л (2-группа). Влияние биохимического состава крови оценивали по всей выборке, а так же отдельно у первотелок, коров второй и третьей-седьмой лактации.

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

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Связь концентрации глюкозы в крови с хозяйственно-полезными признаками у коров показана в таблице 1. Поученные данные свидетельствуют, что у преобладающего большинства животных уровень углевода в послеродовом периоде превышал физиологические значения, и лишь у единичных особей наблюдалась гипогликемия (содержание глюкозы менее 2,2 ммоль/л). Так, концентрация моносахарида свыше 3,3 ммоль/л установлена у 90,1% коров. Высокий уровень глюкозы после родов ассоциировался с ухудшением показателей воспроизводительной способности: коровам, с повышенным уровнем моносахарида требовалось на 0,6 осеменений больше (P≤0,01), по сравнению с животными, чьи показатели находились в пределах физиологической нормы. При этом с увеличением возраста лактаций влияние уровня моносахарида становилось ощутимей. Так у первотелок разница составляла 0,2 осеменения, у коров второй лактации – 0,6, а у более взрослых животных – 1,2 осеменения на оплодотворение (P≤0,001). Повышение концентрации глюкозы так же негативно влияло на продолжительность периода от отела до наступления следующей стельности. У первотелок увеличение показателя сопровождалось удлинением периода бесплодия на 18,7%, у коров второй лактации на 26,4%, у животных 3…7 лактации на 43,4% (P≤0,05). В среднем удлинение периода от отела до оплодотворения у животных с повышенной концентрацией глюкозы в крови после родов составила 39,4 дня (P≤0,05). Выраженного влияние уровня моносахарида крови на другие хозяйственно-полезные признаки установлено не было.

Анализ влияния концентрации β-гидроксибутирата в крови на хозяйственно-полезные признаки показан в таблице 2. Согласно полученным цифровым значениям, можно заключить, что повышение уровня метаболита более 0,7 ммоль/л сопровождается ухудшением воспроизводительной функции. Так, несмотря на одинаковое количество осеменений на оплодотворение (2,7), в среднем по всем лактациям, у коров с повышенной концентрацией кетонов наблюдалось удлинение периода бесплодия на 21,2 дня (P≤0,05). При этом негативное влияние на репродуктивную функцию кетонемия в меньшей степени оказывала на коров 3…7 лактации, и в большей – на первотелок и животных второй лактации. Так, после первых родов удлинение периода от отела до оплодотворения составило 42,0 дня (P≤0,05), а по второй лактации - 29,2 дня (P≤0,05). В первые два отела повышение в крови β-гидроксибутирата сопровождалось не достоверным увеличением количества полученного молока за всю лактацию (на 7,3…7,7%), однако величина удоя в пересчете на 305 дней была наоборот выше у животных с низким содержанием кетонов. Причиной увеличения удоя за всю лактацию было удлинение периода самой лактации вследствие длительного бесплодия у коров с кетонемией. Так у первотелок с уровнем β-гидроксибутирата свыше 0,7 ммоль/л средняя продолжительность лактации составила 390,1±17,9 дней, что на 46,1 день дольше, по сравнению с животными первой группы.

Таблица 1 – Характеристика хозяйственно-полезных признаков у коров с различным уровнем глюкозы в послеродовой период

Показатель	1 лактация		2 лактация		3…7 лактация		В среднем	
Группа	1	2	1	2	1	2	1	2
Количество животных	14	203	12	112	20	104	46	419
Средняя концентрация глюкозы, ммоль/л	2,98 ±0,08	4,09 ±0,04	2,95 ±0,13	4,01 ±0,07	2,94 ±0,11	4,16 ±0,08	2,91 ±0,07	4,08 ±0,03
Минимальная концентрация глюкозы, ммоль/л	2,4	3,4	2,1	3,4	2,1	3,4	2,2	3,4
Максимальная концентрация глюкозы, ммоль/л	3,3	5,8	3,3	8,8	3,3	10,2	3,3	8,3
Кратность осеменения на оплодотворение, раз	2,4 ±0,3	2,6 ±0,1	2,1 ±0,5	2,8 ±0,2	1,9 ±0,2	3,1 ±0,2***	2,1 ±0,2	2,7 ±0,1**
Период от отела до оплодотворения, дней	146,3 ±20,0	173,6 ±10,7	137,3 ±31,1	173,6 ±10,6	113,7 ±16,8	163,0 ±10,1*	131,1 ±14,0	170,5 ±6,4*
Удой за 100 дней лактации, кг	2768,7 ±119,9	2789,8 ±32,4	3202,7 ±131,6	3321,7 ±66,4	3052,0 ±226,3	3028,3 ±83,9	2952,8 ±114,6	2996,4 ±33,2
Коэффициент устойчивости лактации, %	92,3 ±3,6	91,6 ±1,0	91,1 ±4,1	85,8 ±1,8	84,6 ±6,4	83,5 ±1,7	88,6 ±3,5	88,1 ±0,8
Средняя продолжительность лактации, дней	360,9 ±21,0	360,4 ±9,6	357,6 ±37,8	348,8 ±11,9	294,7 ±11,2	331,0 ±10,0*	331,1 ±15,5	350,3 ±6,2
Удой за всю лактацию, кг	8037,3 ±594,2	8443,0 ±219,9	8533,7 ±517,8	8803,0 ±304,2	7185,9 ±692,5	7367,2 ±296,6	7682,1 ±382,9	8282,0 ±154,7
Удой за 305 дней лактации, кг	7056,5 ±406,8	7314,5 ±113,2	7639,7 ±578,8	7844,0 ±194,0	7373,5 ±600,6	6933,3 ±236,2	7280,6 ±330,0	7363,4 ±95,2

*Различия достоверны: *P≤0,05 **P≤0,01 ***P≤0,001 по отношению к первой группе*

Таблица 2 – Характеристика хозяйственно-полезных признаков у коров с различным уровнем β-гидроксибутирата в послеродовой период

Показатель	1 лактация		2 лактация		3…7 лактация		В среднем	
Группа	1	2	1	2	1	2	1	2
Количество животных	142	75	67	57	56	68	265	200
Средняя концентрация β-гидроксибутирата, ммоль/л	0,47 ±0,01	1,00 ±0,06	0,50 ±0,01	1,04 ±0,06	0,47 ±0,02	1,20 ±0,08	0,48 ±0,01	1,07 ±0,04
Минимальная концентрация β-гидроксибутирата, ммоль/л	0,1	0,7	0,2	0,7	0,1	0,7	1,3	0,7
Максимальная концентрация β-гидроксибутирата, ммоль/л	0,6	3,6	0,6	3,2	0,6	3,8	0,6	3,4
Кратность осеменения на оплодотворение, раз	2,5 ±0,1	2,7 ±0,2	2,7 ±0,2	2,8 ±0,2	3,0 ±0,3	2,7 ±0,2	2,7 ±0,1	2,7 ±0,1
Период от отела до оплодотворения, дней	158,5 ±10,6	200,5 ±16,7*	155,6 ±11,0	184,8 ±9,5*	152,4 ±10,2	147,2 ±13,5	156,7 ±7,1	177,9 ±7,3*
Удой за 100 дней лактации, кг	2809,9 ±38,2	2758,0 ±54,0	3334,8 ±73,9	3281,3 ±101,7	3043,1 ±113,0	3023,1 ±110,4	2991,8 ±38,8	2993,5 ±53,6
Коэффициент устойчивости лактации, %	91,6 ±1,2	91,9 ±1,9	87,4 ±2,3	85,0 ±2,5	81,3 ±2,8	85,7 ±2,1	88,3 ±1,1	87,8 ±1,2
Средняя продолжительность лактации, дней	344,0 ±9,8	390,1 ±17,9*	337,9 ±16,4	358,9 ±15,5	329,5 ±12,2	321,9 ±12,3	339,8 ±7,1	358,9 ±9,3
Удой за всю лактацию, кг	8217,7 ±255,1	8814,3 ±366,8	8410,2 ±360,3	9060,6 ±403,3	7506,8 ±395,0	7210,0 ±373,3	8109,9 ±186,5	8369,5 ±227,2
Удой за 305 дней лактации, кг	7366,1 ±150,1	7095,6 ±186,9	7868,7 ±273,4	7763,0 ±231,7	6975,2 ±316,4	6983,0 ±303,6	7367,3 ±120,4	7281,2 ±146,4

*Различия достоверны: *P≤0,05 по отношению к первой группе*

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведенные исследования свидетельствуют, что в послеродовом периоде у большинства животных наблюдается повышенное содержание глюкозы в крови. Высокий уровень данного углевода ассоциирован с удлинением периода бесплодия и снижением оплодотворяемости. Причиной гипергликемии, возможно, является снижение восприимчивости тканей к ее эффективному поглощению на фоне метаболических нарушений, которые сопровождаются патологией органов, участвующих в регуляции уровня углевода (поджелудочная железа, надпочечники, печень и т.д.). Так же гипергликемия может быть обусловлена изменением оптимального отношения летучих жирных кислот образующихся в рубце по причине высококонцентратного типа кормления. Повышение уровня β-гидроксибутирата в крови более 0,7 ммоль/л так же негативно сказывается на воспроизводительной функции коров, что требует коррекции метаболических процессов в послеродовом периоде.

THE EFFECT OF THE CONCENTRATION OF β - HYDROXYBUTYRATE AND GLUCOSE IN THE BLOOD ON THE REPRODUCTIVE FUNCTION AND MILK PRODUCTIVITY OF COWS

Nikolaev S. V. – Candidate of Veterinary Sciences, Researcher, (ORCID 0000-0001-5485-4616).

Zhuravsky Institute of Agrobiotechnologies of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

*semen.nikolaev.90@mail.ru

ABSTRACT

The intensity of metabolic processes in highly productive cows is associated with metabolic disorders and the development of dystrophic changes in the body. The paper evaluates the effect of the concentration of β -hydroxybutyrate and glucose in the blood of new-bodied cows on the indicators of reproductive ability and milk productivity. To do this, venous blood was obtained from cows of different ages after childbirth, where the concentration of glucose and β-hydroxybutyrate was determined. Depending on the level of glucose and ketone bodies, animals were retrospectively differentiated into groups and the severity of economically useful signs was determined. It was found that cows with a glucose level above 3.3 mmol/l required 0.6 more inseminations (P≤0.01), compared with animals whose indicators were in the range of 2.2...3.3 mmol/l. At the same time, the greatest difference in the multiplicity of insemination was present in animals 3...7 lactation (1.2 inseminations per fertilization; P≤0.001). The period from calving to fertilization in cows with a high glucose content was longer by 39.4 days (P < 0.05), while the maximum deviation was found among animals older than the 2nd lactation (by 43.4%; P< 0.05). An increase in the level of β-hydroxybutyrate over 0.7 mmol/l was also accompanied by a deterioration in reproductive function. Thus, the lengthening of the infertility period for all lactation was 21.2 days (P≤0.05). The most pronounced negative effect on reproductive function in ketonemia was observed in first-heifers and cows of the second lactation. So, after the first birth, the lengthening of the period from calving to fertilization was 42.0 days (P < 0.05), and after the second lactation - 29.2 days (P < 0.05). Thus, an increase in the level of glucose and β-hydroxybutyrate in the blood negatively affects, first of all, the reproductive function of cows, and to a lesser extent, the indicators of milk productivity.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Baimishev M. Markers of lipid metabolism and antioxidant system of organisms of cows depending on their physiological state / M. Baimishev, S. Yeremin, K. Plemyashov, H. Baimishev, I. Konopeltsev // XII International Scientific Conference on Agricultural Machinery Industry, 10-13 September 2019, Don State Technical University, Russian Federation: IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science Vol.403 (2019) 012013.
2. Chalmeh A, Pourjafar M, Badiei K, Jalali M, Mazrouei Sebdani M. The comparative

effects of dietary monensin and propylene glycol on insulin resistance of transition dairy cows. Tropical Animal Health and Production. 2019. 52; 1573-1582.
3. Chalmeh A., Pourjafar M, Nazifi S, Momenifar F, Mohamadi cheshmehgol M. Insulin resistance in different physiological states of high producing Holstein dairy cows. Acta Scientiae Veterinariae. 2015. 43; 1-7.
4. De Koster J.D., Opsomer G. Insulin resistance in dairy cows. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 2013. 29; 299-322. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2013.04.002
5. Nikolaev S. Evaluation of intraperitoneal administration of glucose solution using in the treatment of ketosis in dairy cows. FASEB Journal. 2022. Т. 36. № S1. P. 04415. https://doi.org/10.1096/fasebj.2022.36.S1.R4415
6. Pourjafar M., Chalmeh A., Mazrouei Sebdani M. Metabolic Syndrome and Insulin Resistance in Transition Dairy Cows // journal of veterinary clinical research. 2021. Т. 12. №. 1. 75-76.
7. Нежданов А.Г., Сафонов В.А., Чусова Г.Г., Синёва А.М., Лободин К.А., Лукина В.А., Панфилов Р.Ю. Состояние гепатобилиарной системы у молочных коров при послеродовой гипофункции яичников// Ветеринария. 2020. № 9. С. 41-46. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.9.41-46
8. Николаев С.В. Эффективность глюкозы при внутрибрюшинном введении коровам с кетозом. Ветеринария. 2021. № 12. С. 44 -49. 10.30896/0042-4846.2021.24.12.44-49
9. Николаев С.В., Конопельцев И.Г. Биохимические показатели крови у коров-первотелок и их корреляция с воспроизводительной функцией. Международный вестник ветеринарии. 2021. № 3. С. 185-191. DOI: 10.17238/issn2072-2419.2021.3.185
10. Медведева М.А. Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика. Справочник для ветеринарных врачей. М.: «Аквариум Принт», 2013; 416 с.
11. Сафонов В.А., Нежданов А.Г., Михалев В.И., Синева А.М., Лободин К.А., Лукина В.А., Панфилов Р.Ю. Концентрация глюкозы в крови молочных коров как индикатор супрессии овуляторной функции яичников после родов// Молочное и мясное скотоводство. 2020. № 2. С. 42-46. DOI 10.33943/MMS.2020.64.22.009
12. Синёва А.М., Лысенко А.В., Нежданов А.Г., Сафонов В.А., Лукина В.А., Лободин К.А., Панфилов Р.Ю. Метаболический профиль крови молочных коров в динамике послеродового периода при восстановлении и депрессии овуляторной функции яичников// Вестник российской сельскохозяйственной науки. 2020. № 1. С. 59-63. DOI: 10.30850/vrsn/2020/1/59-63
13. Требухов А.В. Клинико-биохимические аспекты кетоза у молочных коров // Ветеринария. 2017. №10. С. 46-49.
14. Ширяев Г.В., Никитин Г.С. Оценка применения кормовых добавок при субклиническом кетозе у высокопродуктивных коров // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2020. № 2. С. 45-50.

REFERENCE

1. Baimishev M. Markers of lipid metabolism and antioxidant system of organisms of cows depending on their physiological state / M. Baimishev, S. Yeremin, K. Plemyashov, H. Baimishev, I. Konopeltsev // XII International Scientific Conference on Agricultural Machinery Industry, 10-13 September 2019, Don State Technical University, Russian Federation: IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science Vol.403 (2019) 012013.
2. Chalmeh A, Pourjafar M, Badiei K, Jalali M, Mazrouei Sebdani M. The comparative effects of dietary monensin and propylene glycol on insulin re-sistance of transition dairy cows. Tropical Animal Health and Production. 2019. 52; 1573-1582.
3. Chalmeh A, Pourjafar M, Nazifi S, Momenifar F, Mohamadi chesh-mehgol M. Insulin resistance in different physiological states of high producing Holstein dairy cows. Acta Scientiae Veterinariae. 2015. 43; 1-7.
4. De Koster J.D., Opsomer G. Insulin resistance in dairy cows. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 2013. 29; 299-322. https://doi.org/10.1016/

j.cvfa.2013.04.002
5. Nikolaev S. Evaluation of intraperitoneal administration of glucose solution using in the treatment of ketosis in dairy cows. FASEB Journal. 2022. Vol. 36. No. S1. P. 04415. https://doi.org/10.1096/fasebj.2022.36.S1.R4415
6. Pourjafar M., Chalmeh A., Mazrouei Sebdani M. Metabolic Syndrome and Insulin Resistance in Transition Dairy Cows // journal of veterinary clinical research. 2021. Vol. 12. no. 1. 75-76.
7. Nezhdanov A.G., Safonov V.A., Chusova G.G., Sineva A.M., Lobodin K.A., Lukina V.A., Panfilov R.Yu. The state of the hepatobiliary system in dairy cows with postpartum ovarian hypofunction// Veterinary medicine. 2020. No. 9. pp. 41-46. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.9.41-46
8. Nikolaev S.V. The effectiveness of glucose in intraperitoneal administration to cows with ketosis. Veterinary medicine. 2021. No. 12. P. 44-49. 10.30896/0042-4846.2021.24.12.44-49
9. Nikolaev S.V., Konopeltsev I.G. Biochemical blood parameters in first-calf cows and their correlation with reproductive function. International Bulletin of Veterinary Medicine. 2021. No. 3. pp. 185-191. DOI: 10.17238/issn2072-2419.2021.3.185
10. Medvedeva M.A. Clinical veterinary laboratory diagnostics. Handbook for veterinarians. M.: "Aquarium Print", 2013; 416 p.
11. Safonov V.A., Nezhdanov A.G., Mikhalev V.I., Sineva A.M., Lobodin K.A., Lukina V.A., Panfilov R.Yu. Glucose concentration in the blood of dairy cows as an indicator of ovarian ovulatory function suppression after childbirth// Dairy and beef cattle breeding. 2020. No. 2. pp. 42-46. DOI 10.33943/MMS.2020.64.22.009
12. Sineva A.M., Lysenko A.V., Nejdanov A.G., Safonov V.A., Lukina V.A., Lobodin K.A., Panfilov R.Yu. Metabolic profile of blood of dairy cows in the dynamics of the postpartum period during recovery and depression of ovulatory function of the ovaries// Bulletin of the Russian Agricultural Science. 2020. No. 1. pp. 59-63. DOI: 10.30850/vrsn/2020/1/59-63
13. Trebukhov A.V. Clinical and biochemical aspects of ketosis in dairy cows // Veterinary medicine. 2017. No. 10. pp. 46-49.
14. Shiryaev G.V., Nikitin G.S. Evaluation of the use of feed additives in subclinical ketosis in highly productive cows // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. 2020. No. 2. pp. 45-50.

УДК: 619: [612.11:618.2]:636.2
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.396

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СВЁРТЫВАЮЩЕЙ СИСТЕМЫ КРОВИ КОРОВ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ПОЗДНЕГО ТОКСИКОЗА БЕРЕМЕННЫХ

Михалёв В.И.* – д-р ветеринар. наук, гл. науч. сотр. сектора болезней органов воспроизводства крупного рогатого скота (ORCID 0000-0001-9684-4045); **Чусова Г.Г.** – канд. биол. наук, зав. лабораторией гематологии и биохимии (ORCID: 0000-0003-1494-8807).

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»

*milhalevvit@yandex.ru

Ключевые слова: *коровы, гестоз, синдром задержки развития плода, беременность, свёртывающая система крови.*

Key words: *cows, gestosis, fetal growth restriction syndrome, pregnancy, blood coagulation system.*

Работа выполнена по гос. заданию 160. «Молекулярно-биологические и нанобиотехнологические методы создания биопрепаратов нового поколения, технологии и способы их применения с целью борьбы с особо опасными инфекционными, паразитарными и незаразными болезнями животных».

Поступила: 06.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Показатели свёртывающей системы крови (тромбиновое время, протромбиновое время, активированное частичное тромбопластиновое время - АЧТВ) изучены на 42 беременных коровах в 60-75, 135-150 и 210-230 дней гестации, разделённых по принципу аналогов на три группы: физиологическое течение, синдром задержки развития плода без позднего токсикоза беременных, синдром задержки развития плода, осложнённый гестозом. Диагностика беременности проводилась при проведении трансректальных и ультразвуковых исследований. Синдром задержки развития плода устанавливали в 60-75 дней беременности с применением ультразвукового сканера с линейным датчиком с частотой 7,5 МГц. Поздний токсикоз беременных диагностировали в 210-230 дней гестации по наличию гипертонии, протеинурии и отёков. От животных, включённых в опыт, отобраны пробы крови для определения содержания тромбоцитов, тромбинового и протромбинового времени и АЧТВ. Установлено, что содержание тромбоцитов является информативным показателем для прогнозирования гестоза в первые пять месяцев беременности с чувствительностью 80,0% и специфичностью 87,5%. Чувствительность тромбинового времени в 60-150 дней беременности составляет 77,8%, специфичность - 90,0%, протромбинового времени – 70,0 и 88,9%, АЧТВ в 135-150 дней гестации – 77,8 и 85,7% соответственно. Прогностическими маркерами ранней диагностики позднего токсикоза беременных, определяемыми в 2 месяца гестации, являются: уровень тромбоцитов 451,2 х 10^9/л и вы-

ше; тромбиновое время – 87,3 сек и ниже; протромбиновое время – 35,1 сек и ниже. Показателями ранней диагностики гестоза, определяемыми в 5 месяцев беременности, являются: уровень тромбоцитов 437,5 х 10^9/л и выше; тромбиновое время – 78,6 сек и ниже; протромбиновое время – 30,3 сек и ниже; АЧТВ – 41,8 сек и ниже.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Беременность является очень ответственным периодом, которое определяет дальнейшее развитие новорождённого молодняка. Основополагающим фактором нормального течения гестации на ранних её стадиях служит гормональный фон, в первую очередь уровень прогестерона, синтезируемого жёлтым телом беременности. Прогестерон обеспечивает трансформацию эндометрия, снижение сократительной функции миометрия и создание комфортных условий для сохранения беременности [1, 2].

Основными формами проявления осложнений нормального течения беременности на ранних её сроках является синдром задержки развития эмбриона и плода, а также внутриутробная гибель зародыша. Степень проявления данных нарушений эмбрионального развития составляет: синдром задержки развития – 17,8-35,4%, эмбриональная смертность – 9,5-18,9% [3, 4].

Гестоз является осложнением заключительного периода беременности. В подавляющем большинстве случаев поздний токсикоз беременности клинически проявляется в 6-7 месяцев беременности. По мнению большинства исследователей гестоз начинает развиваться в более ранние сроки, но не имеет клинического проявления [5, 6].

В основе развития эмбриопатий находятся нарушения процессов питания, определяемых интенсивностью кровоснабжения развивающегося зародыша. Сердечно-сосудистая система матери во время беременности испытывает колоссальное напряжение. На функционирование сердечно-сосудистой системы, особенно на заключительном этапе беременности, оказывает также влияние состояние свёртывающей/ противосвёртывающей системы крови. Активизация работы свёртывающей системы приводит к снижению кровоснабжения мелких сосудов, капилляров, их тромбозу, развитию инфарктов участков плаценты, что в конечном итоге, сопровождается рождением маложизнеспособного приплода [7].

Поэтому, оценка возможности использования показателей свёртывающей системы крови коров для прогнозирования позднего токсикоза беременных является актуальной для ветеринарной акушерской науки.

Цель исследований – изучить возможность применения показателей свёртывающей системы крови коров для прогнозирования позднего токсикоза беременных. Новизна данной работы заключается в том, что определены показатели системы свёртывания крови коров при физиологическом и осложнённом течении гестации, которые можно использовать для прогнозирования развития позднего токсикоза беременных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводились в ЗАО «Славянское» Верховского района Орловской области на беременных коровах голштинской породы с массой тела 550-600 кг, начиная с 60-75 дней гестации. Диагностика беременности проводилась при проведении трансректальных и ультразвуковых исследований, по результатам которых коровы были разделены на три группы: первая (n=18) - с физиологическим течением гестации, вторая (n=10) - с синдромом задержки развития плода без позднего токсикоза беременных, третья (n=14) – с синдромом задержки развития плода, осложнённого гестозом. Синдром задержки развития плода устанавливали в соответствии с «Методическим пособием по ультразвуковой диагностике беременности и задержки развития плода у коров» [8]. Диагностику позднего токсикоза беременных у коров проводили ретроспективно – в 7 месяцев гестации по наличию гипертонии, протеинурии и отё-

ков. От всех животных, включённых в опыт, в 60-75, 135-150 и 210-230 дней беременности отобраны пробы крови для определения: содержания тромбоцитов и показателей коагулограммы (тромбиновое и протромбиновое время, АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время). Уровень тромбоцитов определён на гематологическом анализаторе «ABX MICRO S60», тромбиновое время – коагулологическим методом с применением «Тромбин-реагента (ПГ-9)», протромбиновое время – клоттинговым методом с использованием реагента «Ренампластин», АЧТВ – клоттинговым методом с применением «АЧТВ-теста» (НПО РЕНАМ, Россия). Полученный при проведении исследований цифровой материал обрабатывали статистически с применением компьютерной программы Microsoft Excel. Результаты выражали как среднее арифметическое и стандартное отклонение (M±SEM). Различия считали статистически значимыми при $p<0,05$. Корреляционный анализ проводили по Пирсону.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Уровень содержания тромбоцитов в крови в течение беременности представлен на рисунке 1. Определение содержа-

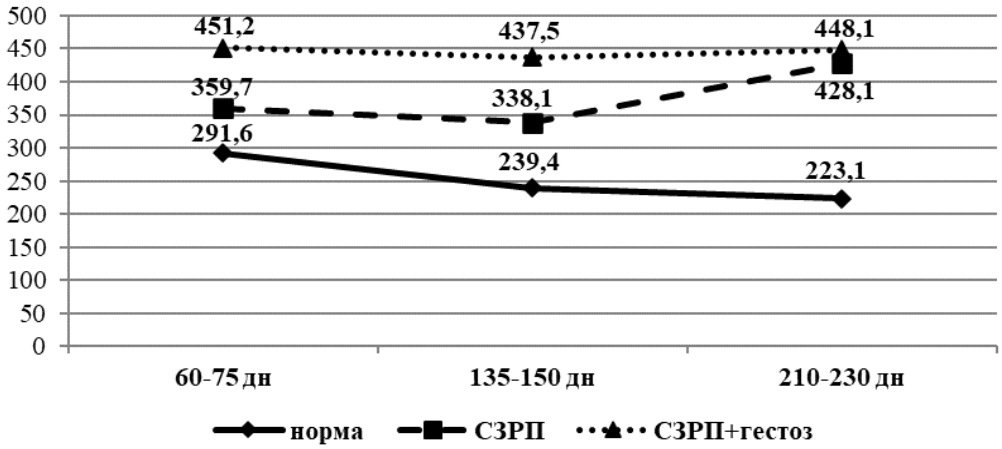


Рисунок 1 – Изменение уровня тромбоцитов при различном характере течения беременности у коров (10^9/л).

ния тромбоцитов в крови коров в 2 и 5 месяцев беременности может являться одним из маркеров ранней диагностики гестоза: концентрация тромбоцитов, равная 451,2 х 109/л и выше в 2 месяца беременности и 437,5 х 109/л и выше в 5 месяцев беременности, указывает на высокий риск развития гестоза с чувствительностью 80,0%, специфичностью 87,5%. Между содержанием тромбоцитов в первые 5 месяцев беременности и гестозом установлена достоверная отрицательная коррелятивная зависимость ($r= - 0,83 – 0,91$; $P<0,001$).

Тромбиновое время (рис. 2), являющееся одним из показателей оценки системы гемостаза, характеризующую скорость превращения фибриногена в фибрин, также можно использовать в качестве показателя ранней диагностики гестоза. Если тромбиновое время в 2 месяца гестации составляет 87,3 сек и менее, в 5 месяцев – 78,6 сек и менее, то беременное животное имеет высокую вероятность развития гестоза (чувствительность - 77,8%, специфичность - 90,0%). Коэффициент корреляции между показателем тромбинового времени и поздним токсикозом беременных составляет: – 0,74 – 0,83 ($P<0,01$).

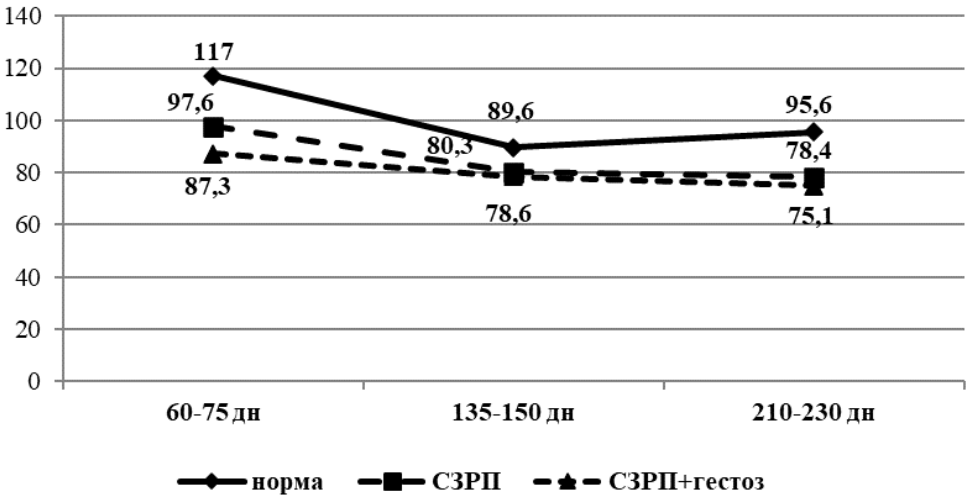


Рисунок 2 – Изменение тромбинового времени у коров при различном характере течения беременности (сек).

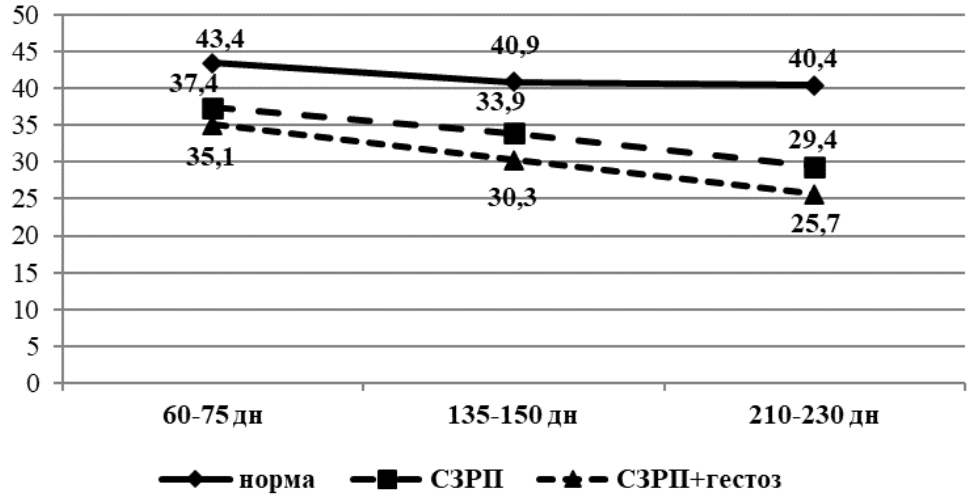


Рисунок 3 – Динамика протромбиного времени у коров при различном характере течения беременности (сек).

Протромбиновое время (рис. 3) является показателем, который отражает время, за которое свёртывается плазма после введения йонов кальция. Показатели протромбинового времени в 2 месяца беременности равные или ниже 35,1 сек и в 5 месяцев беременности 30,3 сек или ниже могут являться одними из маркеров ранней диагностики гестоза с чувствительностью 70,0%, специфичностью - 88,9%. Коэффициент корреляции между показателем протромбинового времени и поздним токсикозом беременных составляет: – 0,69 – 0,81 ($P<0,01$).

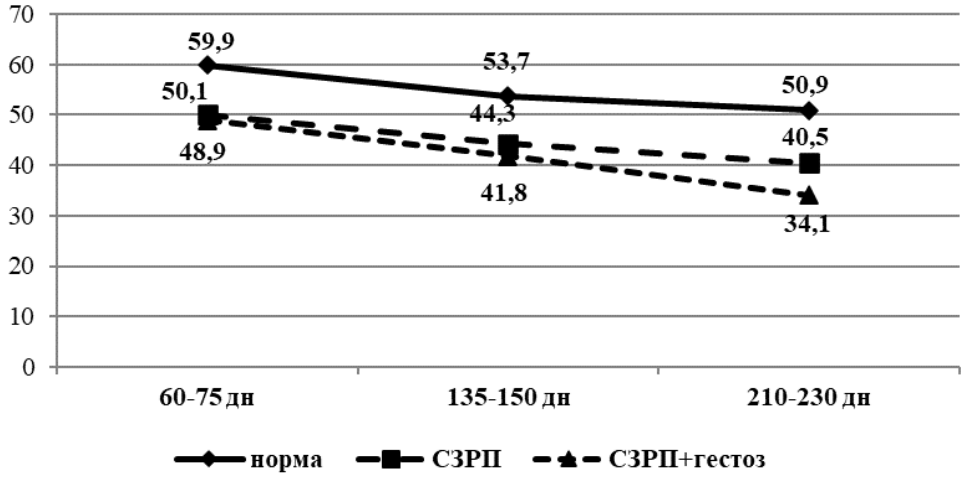


Рисунок 4 – Изменение АЧТВ у коров при различном характере течения беременности (сек).

АЧТВ отражает работу общего каскада свёртывающей системы крови, характеризующий уровень содержания факторов свёртывания, антикоагулянтов и ингибиторов. При определении АЧТВ (рис. 4) в первые 5 месяцев беременности у коров установлено: если в 5 месяцев показатели равны или ниже 41,8 сек, то животное имеет высокую вероятность развития гестоза (чувствительность – 77,8%; специфичность – 85,7%; коэффициент корреляции – -0,58; $P<0,05$).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, прогностическими маркерами ранней диагностики позднего токсикоза беременных, определяемыми в 2 месяца гестации, являются: уровень тромбоцитов 451,2 х 10^9/л и выше; тромбиновое время – 87,3 сек и ниже; протромбиновое время – 35,1 сек и ниже. Показателями ранней диагностики гестоза, определяемыми в 5 месяцев беременности, являются: уровень тромбоцитов 437,5 х 10^9/л и выше; тромбиновое время – 78,6 сек и ниже; протромбиновое время – 30,3 сек и ниже; АЧТВ – 41,8 сек и ниже.

ASSESSMENT OF THE POSSIBILITY OF USING INDICATORS OF THE BLOOD COAGULATION SYSTEM OF PREGNANT COWS TO PREDICT LATE TOXICOSIS

Mikhalev V.I. – Doc. of Vet. Sciences, Chief Scientific Associate of the Sector of Diseases of Bovine Reproductive Organs (ORCID 0000-0001-9684-4045), **Chusova G.G.**– Cand. of Biol. Sciences, Head of the Laboratory of Hematology and Biochemistry (ORCID 0000-0003-1494-8807).

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

*milhalevvit@yandex.ru

ABSTRACT

Indicators of the blood coagulation system (thrombin time, prothrombin time, activated partial thromboplastin time - aPTT) were studied on 42 pregnant cows at 60-75, 135-150 and 210-230 days of pregnancy, divided according to the principle of analogues into three groups: physiological course, fetal growth restriction syndrome without late toxicosis of pregnancy, fetal growth restriction syndrome complicated by

gestosis. Pregnancy was diagnosed using transrectal and ultrasound examinations. Fetal growth restriction syndrome was diagnosed at 60-75 days of pregnancy using an ultrasound scanner with a linear sensor with a frequency of 7.5 MHz. Late toxicosis of pregnant animals was diagnosed at 210-230 days of pregnancy by the presence of hypertension, proteinuria and edema. Blood samples were taken from the animals included in the experiment to determine the platelet content, thrombin and prothrombin time and aPTT. It has been established that platelet content is an informative indicator for predicting gestosis in the first five months of pregnancy with a sensitivity of 80.0% and specificity of 87.5%. The sensitivity of thrombin time at 60-150 days of pregnancy is 77.8%, specificity - 90.0%, prothrombin time - 70.0 and 88.9%, aPTT at 135-150 days of pregnancy - 77.8 and 85.7%, respectively. Prognostic markers for early diagnosis of late toxicosis in pregnant animals, determined at 2 months of pregnancy are: platelet level - 451.2 x 10^9/L and higher; thrombin time – 87.3 seconds and below; prothrombin time – 35.1 seconds and below. Indicators for early diagnosis of gestosis, determined at 5 months of pregnancy, are: platelet level - 437.5 x 10^9/L and higher; thrombin time – 78.6 seconds and below; prothrombin time – 30.3 seconds and below; aPTT – 41.8 sec and below.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Нежданов А.Г. Михалев В.И., Дюльгер Г.П., Лозовая Е.Г. К вопросу внутриутробной гибели и задержки развития зародышей у молочных коров. Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии.2014.3:120-124. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22149091.
2. Lonergan P., Forde N., Spencer T.E. Role of progesterone in embryo development in cattle. Reprod., Fertility and Development.2016.28:66-74. Doi:10.1071/RD15326.
3. Бутко В.А., Лозовая Е.Г., Михалёв В.И. Клинико-эхографические маркеры диагностики нарушений раннего эмбриогенеза у коров. Ветеринарный фармакологический вестник.2020;2 (11):177-190. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2020.2.177.
4. Humbliot A. Use of pregnancy specific protens and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing tregnenscies and sources of embryonic mortality in ruminants. Theriogenology.2001.56(9):1417 –1433. DOI: 10.1016/s0093-691x(01)00644-6.
5. Авдеенко В.С., Тресницкий С.Н., Калюжный И.И., Бабухин С.Н. Субклинический кетоз как фактор развития у коров гестоза и его роль в возникновении фетоплацентарной недостаточности. Аграрный научный журнал.2017.4: С. 3-7. DOI: https://doi.org/10.28983/asj.v0i4
6. Черницкий А.Е., Шабунин С.В., Сафонов В.А. Преэклампсия у коров: функциональные нарушения в системе мать-плацента-плод и их последствия для здоровья потомства. Сельскохозяйственная биология.2019.54(2):246-258. DOI: 10.15389/agrobiology.2019.2.246rus.
7. Нежданов А.Г. Рецкий М.И., Алехин Ю.Н. Клинико-гематологический и биохимический статус коров при гестозе. Сельскохозяйственная биология.2010.4:118-123. DOI: 10.15389/agrobiology.2010.4.118rus.
8. Нежданов А.Г., Михалёв В.И., Климов Н.Т. и др. Ультразвуковая диагностика беременности и задержки развития эмбриона и плода у коров. Методическое пособие. 2013:20. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21372259

REFERENCES

1. Nezhdanov A.G. Mikhalev V.I., Dyulger G.P., Lozovaya E.G. On the issue of intrauterine death and delayed development of embryos in dairy cows. Normative-legal regulatory issues in veterinary medicine.2014.3:120-124. Access mode: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22149091. [in Russ.]
2. Lonergan P., Forde N., Spencer T.E. Role of progesterone in embryo development in cattle. Reprod., Fertility and Development.2016.28:66-74. Doi:10.1071/RD15326.
3. Butko V.A., Lozovaya E.G., Mikhalev

V.I. Clinical and echographic markers for diagnosing disorders of early embryogenesis in cows. Bulletin of Veterinary Pharmacology. 2020;2(11):177-190. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2020.2.177. [in Russ.]
4. Humbliot A. Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing of pregnancy and sources of embryonic mortality in ruminants. Theriogenology.2001.56(9):1417–1433. DOI: 10.1016/s0093-691x(01)00644-6.
5. Avdeenko V.S., Tresnitskiy S.N., Kalyuzhnyy I.I., Babukhin S.N. Subclinical ketosis as a factor in the gestosis development in cows and its role in the occurrence of fetoplacental insufficiency. Agrarian scientific journal.2017.4: P. 3-7. DOI: https://doi.org/10.28983/asj.v0i4 [in Russ.]
6. Chernitskiy A.E., Shabunin S.V., Safonov V.A. Preeclampsia in cows: functional disorders in the mother-placenta-fetus system and their consequences for the health of the offspring. Agricultural Biology.2019.54(2):246-258. DOI: 10.15389/agrobiology.2019.2.246rus. [in Russ.]
7. Nezhdanov A.G. Retskiy M.I., Alekhin Yu.N. Clinical, hematological and biochemical status of cows with gestosis. Agricultural Biology.2010.4:118-123. DOI: 10.15389/agrobiology.2010.4.118rus. [in Russ.]
8. Nezhdanov A.G., Mikhalev V.I., Klimov N.T. et al. Ultrasound diagnosis of pregnancy and delayed development of the embryo and fetus in cows. Toolkit. 2013:20. Access mode: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21372259 [in Russ.]

УДК: 916:615.273:618.36:636.1
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.403

ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАРКЕРА ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ KI-67 В ПЛАЦЕНТЕ КОРОВ ПРИ ОСЛОЖНЕННОЙ БЕРЕМЕННОСТИ И ПАТОЛОГИЧЕСКИХ РОДАХ

Авдеенко В.С. * – д-р ветеринар. наук, проф. кафедры генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID 0000-0001-6154-275X); **Макавчик С.А**. – д-р ветеринар. наук, доц. кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии (ORCID 0000-0001-5435-8321); **Сафронов Д.И.** – канд. ветеринар. наук, доц. кафедры биологии, экологии и гистологии (ORCID 0000-0002-0803); **Моисеева К.А.** – асп. кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии (ORCID 0000-0003-4526-7430).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*avdeenko0106@mail.ru

Ключевые слова: *плацента, крупный рогатый скот, гистологические исследования, осложнение беременности и родов.*

Key words: *placenta, cattle, histological studies, complication of pregnancy and labor.*

Финансирование: *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда 23-26-00284, https://rscf.ru/project/23-26-00284/.*

Поступила: 10.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

В современных высокотехнологичных молочных предприятиях остро стоит проблема перинатальных заболеваний высокопродуктивного молочного скота. В текущем исследовании представлено распределение внеклеточного матрикса у коров при физиологической беременности, завершающейся спонтанными родами (ФБ/СР), и осложненной беременностью с симптомами преэклампсия/эклампсия, завершающейся патологическими родами (ОБ/ПР) с помощью гистологических, гистохимических (ГХ) и иммуногистохимических (ИГХ) методов исследования. Биопсиойный материал плацент был получен от 10 коров в родах: от 5 коров при ФБ/СР и от 5 коров при ОБ/ПР. Образцы плацент коров при ФБ/СР и ОБ/ПР подвергали стандартным гистологическим процедурам. Парафиновые срезы плаценты толщиной 5 мкм, монтировали на стекла, обработанные поли-L-лизином («Menzel»). С помощью ИГХ исследования изучали иммунолокализацию биомаркера Ki-67. Гистохимическим изучением в плацентах коров при ФБ/СР выявили присутствие большого количества мелких капилляров как в ворсинах котиледонов, так и в карункулярных криптах, а также равновесное соотношение мезенхимальных и эпителиальных структур. Проведенная реакция на виментин показала деградацию фибробластов. В просвете крипт регистрировали только бесструктурные массы и небольшое количество мак-

рофагподобных клеток. Кроме того, в центральной части неизмененых ворсин установили резкое снижение количества мелких капилляров, а также редукцию терминальных ворсин хориона и снижение васкуляризации оставшихся ворсин. Иммунолокализация содержания промежуточных биомаркера показала содержание большого количества Ki-67 в клетках выстилки крипт. При беременности ОБ/ПР продемонстрировано снижение васкуляризации ворсин хориона в котиледонах и деградацию цитокератиновых филаментов, участвующих в формировании клеточных контактов между цитотрофобластами ворсин хориона котиледонов фетальной части плаценты и эпителиоцитами крипт карункулов материнской части плаценты, что позволит в будущем разработать имуноферментный анализ (ИФА) как экспресс – тест диагностики репродуктивных патологий у молочного скота. Выраженная экспрессия белка Ki-67 была обнаружена в клетках, выстилающих крипты карункулов, а также в цитоплазматической мембране цитотрофобластов ворсин. В плаценте коров, беременность и роды которых осложнялись патологией, пролиферативная активность клеток выстилки маточных крипт сохранялась на физиологическом уровне, в то время как отдельные ворсины хориона были полностью редуцированы, а в сохранившихся индекс экспрессии Ki-67 составил 36,94%.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В современных высокотехнологичных молочных предприятиях остро стоит проблема перинатальных заболеваний, которые остаются малоизученными, а существующие подходы к профилактике и лечению этих заболеваний остаются симптоматическими [1, 2]. Несмотря на многочисленные публикации [3], в программы разведения молочных коров некоторых молочных предприятий и племенных организаций экспресс-тестов репродуктивных патологий и заболеваний новорожденных телят в неонатальный период, не существует четкого соглашения о том, как оптимально данные заболевания прогнозировать в будущем. Как полагают [1, 3, 4] ни один из методов прогнозирования репродуктивных патологий в подобных предприятиях не нашел широкого практического применения. Физиологические особенности обмена веществ у высокопродуктивного дойного стада, регулирующее формирование и реорганизацию плаценты, эпителиально-мезенхимальную трансформацию, которые могут вызывать ПЭ/Э, задержание последа и репродуктивные патологии (воспаление матки, заболевания и функциональные расстройства яичников), что в свою очередь может повлечь осложнения инфекционной природы [2,3]. По данным [4,5] плацента формируется из трофобластов, образующихся на ранних сроках беременности посредством пролиферации и дифференцировки стволовых клеток трофобласта (TSC). На стадии бластоцисты TSCs дифференцируются в мононуклеарные цитотрофобласты (CTB), поддерживая быстрый рост и адгезию, связанные с классическими маркерами, включая Ki67, CD31 и SPP1. Часть CTB по материалам исследований [6] проникает в эпителий просвета матки (LE) с образованием вневорсинчатого трофобласта (EVT), а EVT прикрепляет плаценту к стенке матки и реконструирует материнские спиральные артериолы, чтобы гарантировать адекватное кровоснабжение развивающегося плода. Остальные CTB стоящие за EVT по данным [6,7] слиты в синцитиотрофобласт (STB), одновременно клетки-предшественники мезодермального происхождения дифференцируются в эндотелиальные клетки сосудов, образуя начальные капилляры, которые следуют направлению инвазии CTB. Кроме того, [8] считают, что они объединяются с CTB и STB, образуя ворсинчатые трофобласты (VTS). Одним из маркеров для определения так называемой «фракции роста клеточной популяции» является белок Ki 67, по экспрессии которого можно исследовать пролиферативную активность, функции белка описаны [9] на молекулярном уровне, что дает возможность использования данного белка в качестве достоверного маркера для выявления всего пула пролиферирующих клеток. Цитокератин-18 по данным

[10] специфически экспрессируется эпителиальными клетками, такими как плацентарные трофобласты и является биомаркером апоптоза клеток. Цитокератин-18 (ЦК-18) по данным относится к семейству цитокератинов I типа. Он также является белком промежуточных филаментов, но только эпителиальных клеток, его основная роль заключается в защите эпителиальных клеток от механических и немеханических повреждений, а также формирования контактов между клетками. Полученные результаты M.G. Mendez, S. Kojima, R.D. Goldman, 2010 убедительно показали, что «…виментин контрастирует с кератинами, которые являются промежуточными филаментами эпителиальных клеток, кроме того он широко используется в качестве маркера эпителиально-мезенхимального перехода клеток. Кроме того, ряд исследователей [11, 12, 13] особо выделяют иммунный дефицит, повышение агрегации эритроцитов и тромбоцитов, изменение коагуляционных свойств крови, нарушение микроциркуляции с повреждением эндотелия капилляров, особенно в тканях формирующейся плаценты; и эндокринной патологии - недостаточности, приводящей к нарушению маточно-плацентарного кровообращения и диффузно-перфузионной недостаточности плаценты. Таким образом, ранняя беременность является наиболее критическим периодом для роста и развития трофобласта, которые определяют успех плацентации. Необходимы дополнительные исследования плаценты для того, чтобы улучшить диагностические подходы и наше понимание данной иммунолокализации виментина, ЦК-18 и Ki-67 [11].

Цель – установить морфологические изменения в плаценте у коров при ФБ/СР и ОБ/ПР и изучить с помощью иммуногистохимических (ИГХ) методов исследования иммунолокализацию Ki-67.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Лабораторные исследования проведены в условиях кафедр генетических и репродуктивных биотехнологий, биологии, экологии и гистологии и микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Микроструктурному исследованию подвергались плацента: карункулы, котиледоны как отдельно, так и всего плацентома, по 15 образцов от каждой плаценты. Исследуемый материал получен в высокотехнологичных молочных предприятиях Ленинградской области от животных в родах (n=5 при физиологически протекающей беременности завершившихся нормальными – спонтанными родами и n=5 при осложнённой беременности преэклампсией/эклампсией завершившихся задержанием последа) крупного рогатого скота голштинской породы, возраста от 3 до 5 лет, массой от 650 до 700 кг, с удоем от 11000 до 15000 литров за лактацию. Возраст и масса новорожденных соответствовали сроку гестации. Визуально отделившиеся последы соответствовали сроку созревания плаценты и продолжительности гестации. Изготовление гистологических препаратов выполнялось по общепринятой методике с использованием световой микроскопии. Фиксацию изучаемого материла проводили в 10% нейтральном забуференном формалине HistoSafe (ООО «ЭргоПродакшн», Россия) в течение 24 часов. После нее осуществляли промывку органов в водопроводной воде, обезвоживание в дегидратирующем растворе Изопреп (ООО «ЭргоПродакшн», Россия) по возрастающей концентрации в нескольких сериях по 30 минут в каждом. Уплотнение материала проводили в двух сериях парафиновых сред Гистомикс (ООО «ЭргоПродакшн», Россия) по 50 минут. Гистологические срезы получали на ротационном микротоме «Ротмик-2» (ЗАО «Орион Медик», Россия) толщиной 5 мкм, которые впоследствии монтировали на предметные стекла и окрашивали стандартными методами для обзорного исследования (гематоксилином и эозином (ООО «ЭргоПродакшн», Россия) и специальными методами (альциановый синий для выявления кислых гликозаминоглика-

нов, ШИК-реакция для выявления нейтральных гликозамингликанов, (ООО «ЭргоПродакшн», Россия)) по общепринятым методикам. Изучение и фотографирование гистологических препаратов проводили с использованием светооптического микроскопа Микмед-5 ЛОМО (АО «Ломо», Россия) при разных увеличениях. Образцы плаценты для иммуногистохимического исследования рассекли на фрагменты толщиной не менее 5 мм с общей площадью до 3 $см^2$ и фиксировали в нейтральном 10% забуферном формалине. Далее образцы карункулов и котиледонов подвергали стандартным гистологическим процедурам, до заключения их в парафиновую среду Histomix (Биовитрум»). Гистологические срезы получали на ротационном микротоме «Ротмик-2» (ЗАО «Орион Медик», Россия) толщиной 5 мкм, которые впоследствии монтировали на предметные стекла, обработанные поли-L-лизином («Menzel»). Для блокирования эндогенной пероксидазы срезы после депарафинизации инкубировали 20 минут в 3% перекиси водорода. Демаскировку антигена осуществляли путем кипячения срезов при 100ºС в цитратном буфере с pH=6,0 в течение 10 минут.

Постановку иммуногистохимических реакций проводили с помощью пероксидаза-полимерной системы визуализации согласно инструкции производителя (Lab Vision, Thermo). Для блокирования эндогенной пероксидазы срезы после депарафинизации инкубировали 20 минут в 3% перекиси водорода. Демаскировку антигена осуществляли путем кипячения срезов при 100ºС в цитратном буфере с pH=6,0 в течение 10 минут. Затем реакцию визуализировали с помощью хромогена, такого как 3-3- диаминобензидином из набора протокола. На заключительном этапе реакции срезы докрашивали гематоксилином Майера. При анализе цифровых количественных показателей использовали тест Манна-Уитни, а также ранговый однофакторный индекс Крускела-Уоллиса. При статистической обработке цифровых данных применяли пакет программ STATISTICA (StatSoft Inc., США, версия 7.0), которая адаптированна к ПК Microsoft Excel 2000 SPSS 10.0.5 for Windows.

Индексы пролиферации определяли по среднему проценту меченных ядер клеток на 100 просмотренных клеток при пересчёте на 1000 клеток и оценивались: отсутствие реакции, слабая реакция (менее 20% клеток), умеренная реакция (20-50% клеток) и выраженная реакция – более 50% клеток. Характер иммуногистохимической реакции оценивали визуально и определяли удельное количество позитивно окрашенных клеток стандартизированными методами морфометрии в иммуногистохимии. Оценку пролиферативной активности производили путем подсчета удельного количества Ki-67-позитивных клеток к общему количеству клеток.

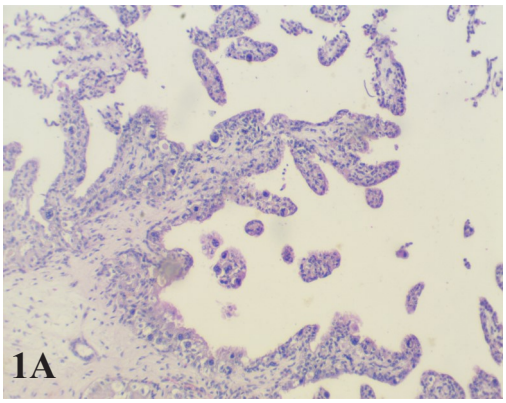
РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

При обзорных методах исследования хорион имел типичную ворсинчатую, сильно разветвленную структуру. Основу ворсин составляла рыхлая волокнистая соединительная ткань с фокусами миксоидного строения и обильной васкуляризацией. Клетки цитотрофобласта имели вид кубических, округло-овальных, уплощенных и полигональных клеток. В плодной части плаценты отмечалась умеренная и выраженная внутриклеточная вакуолизация клеток, вследствие чего они приобретали перстневидную и просветленную морфологию. Ядра среднего и крупного размера, округло-овальной формы, нормохромные с одним-двумя средними и мелкими нуклеолами. Иногда выявлялись двух- и трехъядерные клетки. При нормально протекающей беременности наблюдалось положительное диффузное окрашивание в области базальной мембраны клеток трофобласта, умеренное число клеток с равномерным цитоплазматическим окрашиванием, располагающихся преимущественно у основания ворсин хориона (рис. 1А). В отдельных случаях отмечалось нарушение клеточных групп с подлежащей соединительной

тканью (слущивание). Субэпителиально располагалась широкая, разветвленная капиллярная сеть с хорошо выраженным полнокровием (рис. 1Б).

В строме ворсин котеледонов регистрировались тонкие коллагеновые нити, а ШИК-позитивные компоненты составляли межклеточное вещество маточных септ карункулов (рис.2А).

При патологической беременности отмечали диффузное неравномерное окрашивание по периферии округло-овальных, вероятно, децидуальных клеток в составе карункула. Также регистрировали окрашивание волокнистого матрикса соединительной ткани. Пучки коллагеновых волокон маточных септ набухали, отмечалась локальная отслойка эпителиальной выстилки, некротические массы вместо ворсин хориона. Фрагмент карункула имел хорошо выраженную соединительнотканную основу, характеризующуюся диффузным фиброзом с умеренной нейтрофильной инфильтрацией. Поверхность имела многочисленные ворсинчатые выпячивания, субтотально



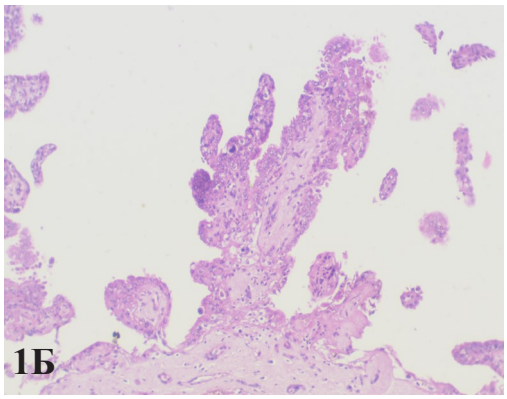
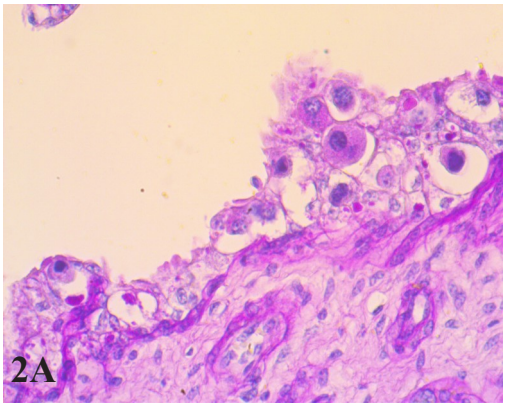


Рисунок 1А – Архитектоника плаценты коровы при физиологической беременности. Окраска гематоксилином и эозином. Общее увеличение 200.
Рисунок 1Б – Архитектоника плаценты коровы при осложненной беременности. Окраска гематоксилином и эозином. Общее увеличение 200.



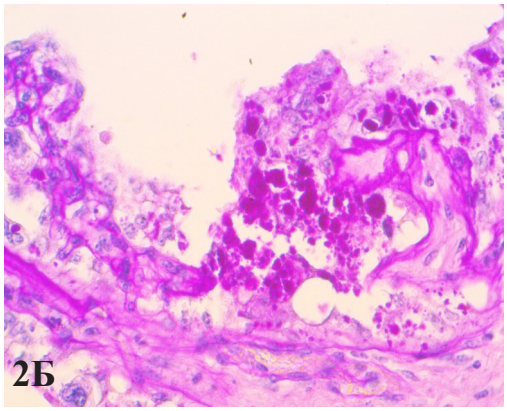


Рисунок 2А – Структурная организация плаценты коровы при физиологической беременности. ШИК-реакция. Общее увеличение 200.
Рисунок 2Б – Структурная организация плаценты коровы при осложненной беременности. ШИК-реакция. Общее увеличение 200.

замещалась поверхностными эпителизированными дефектами (вероятно, эрозиями), выявлялись отдельные низкопризматические группы клеток с признаками дистрофии в виде просветленной цитоплазмы и с образованием в субэпителиальной области очагов грануляционной ткани (рис.2Б).

При иммуногистохимическом исследовании плаценты, полученной в родах от клинически здоровых коров, установлена активная экспрессия Ki-67, которая наблюдалась в эпителиоцитах, выстилающих лакуны маточных крипт. Индекс пролиферации Ki-67 составил 36,94% меченных ядер клеток. В ворсинах хориона митотическая активность обнаруживалась только в цитотрофобластах, от 20 до 50%. При гистологическом анализе зоны плацентом на срезах общее количество ядер клеток цитотрофобластов составило 8945±345,5. На срезах плацентом полученных от коров с осложненной беременностью, завершившейся патологическими родами данный показатель был равен 27818±304,7 при статистически достоверной разнице, что превосходило число клеток цитотрофобласта в 3,1 раза (Таблица 1).

На срезах плацентом определялась Ki -67-позитивная ядерная экспрессия антигена преимущественно в зоне контакта ворсин хориона с криптами карункулов. На микропрепаратах плаценты Ki-67-позитивные клетки определялись в количестве 10276±322,8, а на срезах плацентом с физиологически протекающей беременностью их уровень составил 6982±45,2, что статистически достоверно и в среднем на 1,47 раза превышало значение данных в гистопрепаратах полученных плацентом от коров с осложненной беременностью (рис.3А, рис.3Б).

Таблица 1 – Морфометрические показатели пролиферативной активности клеток в зоне плацентом, иммуногистохимическим методом с антителами к белку Ki-67

Группы животных	Общее кол-во ядер клеток (M±m)	Общее кол-во Ki-67 позитивных клеток	Индекс пролиферации, %
Физиологическая беременность (n=5)	8945±345,5	6982±45,2	78,05
Осложнение беременности (n=5)	27818±304,7*	10276±322,8*	36,94

** данные достоверны относительно контроля, $p \leq 0,05$.*

В плаценте коров, у которых осложненная беременность завершалась патологическими родами, пролиферативная активность клеток эпителиоцитов выстилки маточных крипт сохранялась на физиологическом уровне, в то время как отдельные ворсины хориона были полностью редуцированы, а в сохранившихся индекс экспрессии Ki-67 составил 36,94%. Необходимо отметить, что результаты иммуногистохимического исследования показали, что плацента коровы с ФБ, где активная экспрессия Ki-67 наблюдалась в эпителиоцитах, выстилающих лакуны маточных крипт, а в плаценте коров, беременность которых осложнялась ОБ/ПР, пролиферативная активность клеток выстилки маточных крипт сохранялась на физиологическом уровне, в то время как отдельные ворсины хориона были полностью редуцированы, а в сохранившихся индекс экспрессии Ki-67 составил от 20 до 50%. Актуальная методика использования маркера пролиферации Ki-67 применялась и Г.Л. Снигур и А.С. Кучерявенко при гистологическом и иммуногистохимическом (с использованием маркера пролиферации К-67) методах изучения пролиферативной активности клеток зоны размножения семенников крыс [10].

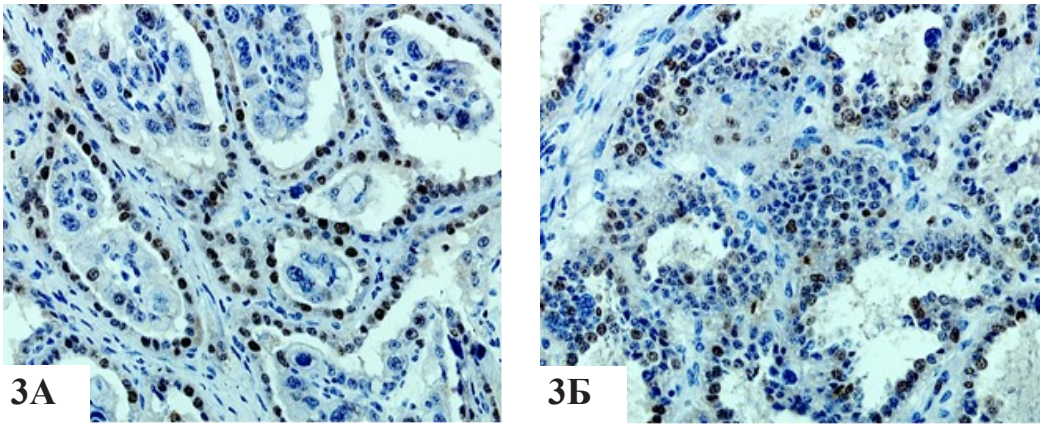


Рисунок 3А – Иммунолокализация антител Ki-67 в плаценте коров при физиологической беременности, пероксидазно-антипероксидазный метод. До окраска гематоксилином Майера. Общее увеличение 200.
Рисунок 3Б – Иммунолокализация антител Ki-67 в плаценте коров при осложнении, пероксидазно-антипероксидазный метод. До окраска гематоксилином Майера. Общее увеличение 200.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате проведенного гистологического и иммуногистохимического исследования содержания промежуточных филаментов эпителиального и мезенхимального фенотипа в плаценте коровы при ФБ/СР выявили присутствие большого количества мелких капилляров как в ворсинах котиледонов, так и в карункулярных криптах, равновесное соотношение мезенхимальных и эпителиальных структур в плаценте. Содержание большого количества промежуточного филамента цитокератина-18 в клетках выстилки крипт. С другой стороны, анализ эпителиальных и мезенхимальных филаментов в плаценте коровы при беременности, осложненной ОБ/ПР продемонстрировал снижение васкуляризации ворсин хориона в котиледонах. Деградация цитокератиновых филаментов, участвующих в формировании клеточных контактов между цитотрофобластами ворсинчатого дерева плода и эпителиоцитами материнской части плаценты. В плаценте коров, у которых осложненная беременность и патологические роды (ОБ/ПР), пролиферативная активность клеток выстилки маточных крипт сохранялась на физиологическом уровне, в то время как отдельные ворсины хориона были полностью редуцированы, а в сохранившихся экспрессия Ki-67 не определялась. Таким образом, сохранение митотического потенциала в клетках материнской части плаценты на фоне тотального снижения пролиферации клеток трофобласта приводит к гиперплазии маточных крипт, полностью занимая свободное пространство карункулов.

LABORATORY METHODS FOR DETERMINING THE MARKER OF PROLIFERATIVE ACTIVITY KI-67 IN THE PLACENTA OF COWS WITH COMPLICATED PREGNANCY AND PATHOLOGICAL BIRTH

Avdeenko V.S. * – Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Genetic and Reproductive Biotechnologies (ORCID 0000-0001-6154-275X); **Makavchik S.A.** – Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology and Immunology (ORCID 0000-0001-5435-8321); **Safronov D.I.** – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Biology, Ecology and Histology (ORCID 0000-0002-0803); **Moiseeva K.A.** – postgraduate student of the Department of

Microbiology, Virology and Immunology (ORCID 0000-0003-4526-7430).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

Financing: *The study was supported by the Russian Science Foundation grant 23-26 -00284, https://rscf.ru/project/23-26-00284/.*

ABSTRACT

In modern high-tech dairy enterprises, the problem of perinatal diseases in highly productive dairy cattle is acute. The current study presents the distribution of extracellular matrix in cows during physiological pregnancy ending in spontaneous labor (FB/SR) and complicated pregnancy with symptoms of preeclampsia/eclampsia ending in pathological labor (OB/PR) using histological, histochemical (HC) and immunohistochemical (IHC) research methods. Biopsy material of placentas was obtained from 10 cows during labor: from 5 cows with FB/SR and from 5 cows with OB/PR. Samples of placentas from cows with FB/SR and OB/PR were subjected to standard histological procedures. Paraffin sections of the placenta, 5 μm thick, were mounted on glasses treated with poly-L-lysine (Menzel). Using IHC studies, the immunolocalization of the Ki-67 biomarker was studied. A histochemical study in the placentas of cows with FB/SR revealed the presence of a large number of small capillaries both in the villi of the cotyledons and in the caruncular crypts, as well as an equilibrium ratio of mesenchymal and epithelial structures. The reaction to vimentin showed degradation of fibroblasts. In the lumen of the crypts, only structureless masses and a small number of macrophage-like cells were recorded. In addition, in the central part of the unchanged villi, a sharp decrease in the number of small capillaries was established, as well as a reduction in the terminal chorionic villi and a decrease in the vascularization of the remaining villi. Immunolocalization of the content of intermediate biomarkers showed the content of a large amount of Ki-67 in the cells of the crypt lining. During pregnancy OB/PR, a decrease in the vascularization of chorionic villi in the cotyledons and degradation of cytokeratin filaments involved in the formation of cellular contacts between the cytotrophoblasts of the chorionic villi of the cotyledons of the fetal part of the placenta and the epithelial cells of the crypts of the caruncles of the maternal part of the placenta have been demonstrated, which will make it possible in the future to develop an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) as a rapid – test for diagnosing reproductive pathologies in dairy cattle. Pronounced expression of the Ki -67 protein was found in the cells lining the crypts of the caruncles, as well as in the cytoplasmic membrane of the villous cytotrophoblasts. In the placenta of cows whose pregnancy and childbirth were complicated by pathology, the proliferative activity of the cells lining the uterine crypts remained at a physiological level, while individual chorionic villi were completely reduced, and in those that remained, the Ki-67 expression index was 36.94%.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Приходько С. А., Родин П.В., Авдеенко В.С., Племешов К.В. Мормфогенез плаценты у крупного рогатого скота при эклампсии. // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2020, №1, С. 117-121.

2.Новиков В.Д., Ясакова Н.Т., Авдеенко В.С. Эпителио-стромальные взаимоотношения в плацентомах жвачных в нормальных и патологических состояниях. // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии, 1991, Т. 6. – С. 27-32.

3.Новиков В.Д., Ясакова Н.Т., Авдеенко В.С., Машак С.В., Цыцорина Т.Н., Герасимова Ю.В. Эпителиостромальные взаимоотношения в котиледонной плаценте жвачных в нормальных и патологических условиях // Морфология. - 1992. - Л 1. - С. 97-103.

4.Sak, M.E. Placental expression of vimentin, desmin and ultrastructural changes in the villi in patients with HELLP syndrome / E. Deveci, A. Turgut, S. Sak, M.S. Evsen, T. Gul, S. Kalkanli Eur // Rev Med Pharmacol Sci. – 2013. – Vol. 17. – P. 874-882.

5.Tesi, M. Gross and histological findings in

the canine placenta and amnion at term: what's normal, abnormal or pathological? / Miragliotta V., Scala, E. Aronica, G. Lazzarini, D. Fanelli, A. Rota, F. Abramo // Reprod Domest Anim. – 2021, Vol. 56. – P. 691-702.
6.Zeiler, M. Cells Tissues Organs. / R. Leiser, G.A. Johnson, H.-R. Tinneberg, C. Pfarrer. // Pathology and Cell Biolog. – 2007. – Vol. 186 Is. 4 (4) –P. 229–242.
7.Reddoch-Cardenas, K.M. Cold storage of platelets in platelet additive solution maintains mitochondrial integrity by limiting initiation of apoptosis-mediated pathways. Peltier G.C., Chance T.C., Nair P.M., Meledeo M.A., Ramasubramanian A.K. // Transfusion. – 2021. – Vol. 61.– P. 178–190.
8.Chiok, K.L.R., Shah, D.H. Identification of common highly expressed genes of Salmonella Enteritidis by in silico prediction of gene expression and in vitro transcriptomic analysis. // Poult. Sci. – 2019. – Vol. 98. – P. 2948–2963.
9.Knofler, M. Human placenta and trophoblast development: Key molecular mechanisms and model systems. / Haider S., Saleh L.; Pollheimer J.; Gamage T.; James J. // Cell. Mol. Life Sci. – 2019. – Vol.76. – P. 3479–3496.
10.Снигур, Г. Л. Особенности пролиферативной активности эпителиоцитов семенников крыс при дефиците магния / Г. Л. Снигур, А. С. Кучерявенко // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2020. – № 4. – С. 42-45.
11.Lucy, M.C., Evans, T.J., Poock, S.E. Lymphocytic foci in the endometrium of pregnant dairy cows: Characterization and association with reduced placental weight and embryonic loss. // Theriogenology. – 2016. – Vol. 86. – P. 1711–1719.
12.Cheng, Y. Cytokeratin 18 regulates the transcription and alternative splicing of apoptotic-related genes and pathways in HeLa cells / Qin K., Huang N., Zhou Z., Xiong H., Zhao J., Zhang Y., Yu S. // Oncol Rep. – 2019. – Vol.42. – P. 301-312.
13.Kim, H.R., Abnormal expression of TIMP-2, SOD, vimentin and PAI proteins in cloned bovine placentae / Naruse K., Lee H.R., Han R.X., Park C.S., Jin D.I. // Reprod. Domest. Anim.– 2009. – Vol. 44. – P. 714-721.

REFERENCES

1. Prikhodko S.A., Rodin P.V., Avdeenko V.S., Plemeshov K.V. Morphogenesis of the placenta in cattle with eclampsia. // Issues of legal regulation in veterinary medicine. 2020, No. 1, pp. 117-121.
2. Novikov V.D., Yasakova N.T., Avdeenko V.S. Epithelio-stromal relationships in ruminant placentomes in normal and pathological conditions. // Archives of Anatomy, Histology and Embryology, 1991, T. 6. – P. 27-32.
3. Novikov V.D., Yasakova N.T., Avdeenko V.S., Mashak S.B., Tsytsorina T.N., Gerasimova Yu.V. Epitheliostromal relationships in the cotyledonal placenta of ruminants under normal and pathological conditions // Morphology. - 1992. - L 1. - P. 97-10Z.
4. Sak, M.E. Placental expression of vimentin, desmin and ultrastructural changes in the villi in patients with HELLP syndrome / E. Deveci, A. Turgut, S. Sak, M.S. Evsen, T. Gul, S. Kalkanli Eur // Rev Med Pharmacol Sci. – 2013. – Vol. 17. – P. 874-882.
5. Tesi, M. Gross and histological findings in the canine placenta and amnion at term: what's normal, abnormal or pathological? / Miragliotta V., Scala, E. Aronica, G. Lazzarini, D. Fanelli, A. Rota, F. Abramo // Reprod Domest Anim. – 2021, Vol. 56. – P. 691-702.
6. Zeiler, M. Cells Tissues Organs. / R. Leiser, G.A. Johnson, H.-R. Tinneberg, C. Pfarrer. // Pathology and Cell Biolog. – 2007. – Vol. 186 Is. 4 (4) –P. 229–242.
7. Reddoch-Cardenas, K.M. Cold storage of platelets in platelet additive solution maintains mitochondrial integrity by limiting initiation of apoptosis-mediated pathways. Peltier G.C., Chance T.C., Nair P.M., Meledeo M.A., Ramasubramanian A.K. //Transfusion. – 2021. – Vol. 61.– P. 178–190.
8. Chiok, K.L.R., Shah, D.H. Identification of common highly expressed genes of Salmonella Enteritidis by in silico prediction of gene expression and in vitro transcriptomic analysis. // Poult. Sci. – 2019. – Vol. 98. – P. 2948–2963.

9. Knofler, M. Human placenta and trophoblast development: Key molecular mechanisms and model systems. / Haider S., Saleh L.; Pollheimer J.; Gamage T.; James J. // Cell. Mol. Life Sci. – 2019. – Vol.76. – P. 3479–3496.
10. Snigur, G. L. Features of the proliferative activity of epithelial cells of the testes of rats with magnesium deficiency / G. L. Snigur, A. S. Kucheryavenko // Volgograd Journal of Medical Scientific Research. – 2020. – No. 4. – P. 42-45.
11. Lucy, M.C., Evans, T.J., Poock, S.E. Lymphocytic foci in the endometrium of pregnant dairy cows: Characterization and association with reduced placental weight and embryonic loss. // Theriogenology. – 2016. – Vol. 86. – P. 1711–1719.
12. Cheng, Y. Cytokeratin 18 regulates the transcription and alternative splicing of apoptotic-related genes and pathways in HeLa cells / Qin K., Huang N., Zhou Z., Xiong H., Zhao J., Zhang Y., Yu S. // Oncol Rep. – 2019. – Vol.42. – P. 301-312.
13. Kim, H.R., Abnormal expression of TIMP-2, SOD, vimentin and PAI proteins in cloned bovine placentae / Naruse K., Lee H.R., Han R.X., Park C.S., Jin D.I. //Reprod. Domestic. Anim. – 2009. – Vol. 44. – P. 714 -721.

УДК: 575.162
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.4.413

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КАЧЕСТВА СПЕРМЫ ЖЕРЕБЦОВ

Никиткина Е.В.* – канд. биол. наук., лаборатория биологии развития (ORCHID 0000-0002-8496-5277).

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста»

* nikitkinae@mail.ru

***Ключевые слова**: сперма, жеребцы, GWAS, SNP*
***Keywords:** semen, stallions, GWAS, SNP*

***Финансирование:** Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки, проект № 121052600354-7/*

Поступила: 02.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Одним из важных факторов, влияющих на воспроизводительную функцию, является генотип животного. Метод геномной селекции основывается на использовании полиморфных однонуклеотидных замен (SNP) как маркеров для определения ценности генотипа животного или растения. Формирование и функционирование репродуктивной системы животных происходит в результате согласованного взаимодействия широкого спектра генов. Поиск геномных ассоциаций GWAS (Genome-Wide Association Studies) с признаками фертильности позволит в дальнейшем вести отбор животных по этим показателям на геномном уровне. Сперму получали при помощи кобыл в охоте и на фантоме с использованием искусственной вагины Hannover (Minitube, Германия). Сперму каждого жеребца собирали не менее трех раз. Было проанализировано качество спермы 96 жеребцов разных пород (арабская, ахалтекинская, тракененская, чистокоровная верховая, орловский рысак, французский рысак, советская тяжеловозная, шетлендский пони, уэльский пони, помести разных пород). Выявлена высокая изменчивость показателей качества спермы. Так, например, концентрация сперматозоидов в эякуляте варьировала от 59 до 514 млн/мл, прогрессивная подвижность от 20 до 87 %, а количество клеток без повреждений от 21,6 до 95,6 %. Такая вариабильность изучаемых признаков дает возможность предположить, что их формирование в процессе онтогенеза происходит под влиянием генетических факторов. Проведенный GWAS анализ по объему эякулята, концентрации и подвижности сперматозоидов жеребцов выявил потенциальные гены-кандитаты, ассоциированные с данными показателями. Ассоциации, выявленные в нашем исследовании, являются многообещающими кандидатами для дальнейшего выявления биологических механизмов, лежащих в основе качества спермы жеребцов.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Одним из важных факторов, влияющих на воспроизводительную функцию, является генотип животного. Метод геномной селекции основывается на использовании полиморфных однонуклеотидных замен (SNP) как маркеров для определения ценности генотипа животного или растения. Считается, что репродуктивное здоровье и признаки репродукции плохо наследуются и вести селекцию по этим признакам малоэффективно. Однако, формирование и функционирование репродуктивной системы животных происходит в результате согласованного взаимодействия широкого спектра генов. Поиск геномных ассоциаций GWAS (Genome-Wide Association Studies) с признаками фертильности позволит в дальнейшем вести отбор животных по этим показателям на геномном уровне [1]. Такая селекция позволит отбирать животных с хорошим сперматогенезом в раннем возрасте, до начала репродуктивного использования.

В связи с этим, основными задачами исследования было оценить сперму жеребцов по физиологическим, морфологическим и биохимическим показателям, оценить изменчивость и индивидуальные особенности сперматогенеза жеребцов и провести GWAS анализ по поиску потенциальных ассоциаций с качеством спермы жеребцов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Сперму получали при помощи кобыл в охоте и на фантоме с использованием искусственной вагины Hannover (Minitube, Германия). Сперму каждого жеребца собирали не менее трех раз. Всего было проанализировано 288 образцов спермы 96 жеребцов. Объем эякулята определяли мерным стаканом. Концентрацию и прогрессивную подвижность сперматозоидов определяли с помощью Аргус-CASA (АргусСофт, Россия) и микроскопа Motic BA 410 (Motic, Китай). Морфологию сперматозоидов изучали, используя набор Дифф-Квик («АБРИС+», Россия) и с помощью Аргус-CASA и микроскопа Motic BA 410. Целостность мембран определяли при помощи окрашивания образцов красителем нигрозин-эозин (Диаэм, Россия) и микроскопа Motic BA 410. Дыхание сперматозоидов определяли на приборе Эксперт-001 с помощью амперометрического датчика для измерения скорости клеточного дыхания. Функциональное состояние энергетической системы оценивали по реакции дыхания на добавление разобщителя дыхания и фосфорилирования – 2,4 динитрофенола (2,4-ДНФ) [2]. Оценку по морфологии, мембранам и стимуляции дыхания 2,4 ДНФ провели на 115 образцах. Для оценки взаимосвязи генотипа и качества спермы выбирали лучшие показатели по каждому жеребцу.

Для проведения поиска геномных ассоциаций с качеством спермопродукции жеребцов, была сформирована база данных, объединяющая генотипы, определенные на чипах использованием Axiom ™ Equine Genotyping Array и фенотипические признаки качества спермы. ДНК выделяли из замороженных образцов спермы фенол/хлороформным методом. Концентрация ДНК составляла от 50 до 500 нг/мкл. Образцы ДНК были генотипированы с использованием Axiom ™ Equine Genotyping Array. Для анализа были отобраны образцы ДНК с качеством генотипирования по локусам SNP более 98%. Выбор SNP производился с помощью программного обеспечения PLINK. После проверки качества 306522 варианта были доступны для дальнейшего анализа. Полногеномные исследования ассоциации (GWAS) были выполнены в программе EMMAX [3] с использованием матрицы родства (IBS). На основе результатов GWAS в программном обеспечении R были получены манхэттенские графики.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Основными параметрами, характеризующими сперматогенез, являются – объем эякулята, концентрация сперматозоидов, подвижность. Также учитываются морфология клеток и функциональное состояние митохондрий. Из данных таблицы 1 видно, что все показатели каче-

ства спермопродукции, характеризуются высокой индивидуальной изменчивостью. Объем эякулята варьировал от 10 до 150 мл, концентрация сперматозоидов в эякуляте от 59 до 514 млн/мл, прогрессивная подвижность от 20 до 87%. Для наглядности максимальные значения прогрессивной подвижности разных жеребцов представлены на рисунке 1. Рисунок демонстрирует значительную вариабельность.

Данные по морфологическим показателям и оценке сопряженности дыхания и фосфорилирования сперматозоидов жеребцов представлены в таблице 2. Из данных таблицы видно, что и эти показатели качества спермы варьировали, так количество клеток без повреждений было от 21,6 до 95,6%.

Таблица 1 – Показатели качества спермы жеребцов (n=288)

Показатель	Нативная сперма			
	Прогрессивная подвижность, %	Объем эякулята, мл	Концентрация сперматозоидов, млн/мл	Общее количество сперматозоидов, млрд
Среднее ±SD	72,7±1,96	59,3 ± 5,12	246,6±15,14	14,0±1,82
Минимум	20	10	59	1,98
Максимум	87	150	514	25,50

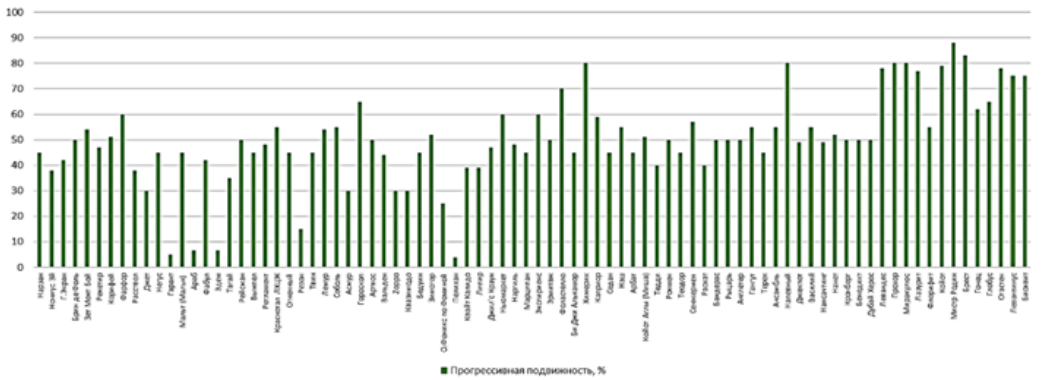


Рисунок 1 – Индивидуальная изменчивость по прогрессивной подвижности сперматозоидов жеребцов.

Таблица 2 – Морфологические показатели и оценка сопряженности дыхания и фосфорилирования в сперме жеребцов

Показатель	Клетки без повреждений, %	Повреждения акросом, %	Повреждения в области хвоста и шейки, %	Повреждения мембран, %	Стимуляция дыхания 2,4 ДНФ, раз
Кол-во образцов	115	115	115	115	115
Среднее±Sd	75,4±3,28	7,7±1,93	21,9±4,87	46,4±3,74	2,13±0,43
Максимум	95,6	33,4	79,6	69,4	3,8
Минимум	21,6	0,12	1,8	15,9	1,0

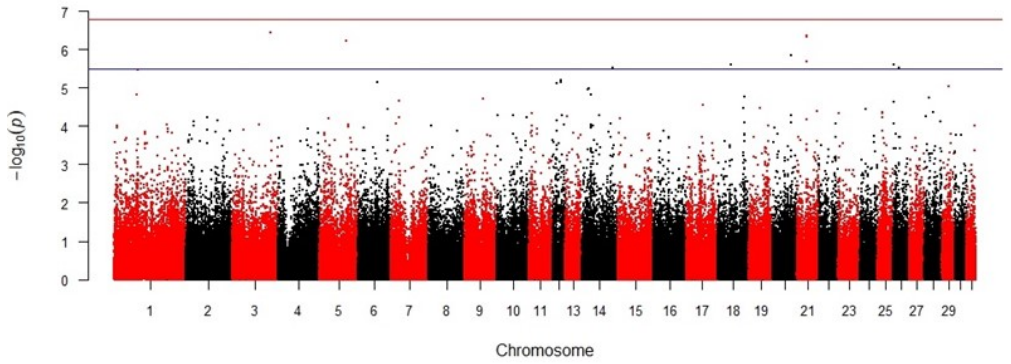


Рисунок 2 – Манхэттенский график GWAS по объему эякулята у жеребцов.

Таблица 3 – Однонуклеотидные полиморфизмы, ассоциированные с объемом эякулята жеребцов

SNP	Хромосома	SNP-Position, BP	P-value	Motif	MAF	Расположение	Кандидатные гены
rs68653574	1	61504816	3.47E-06	G/A	(G) 0.434	intron variant	*CFAP70*
rs1136439137	3	102464948	3.74E-07	A/C	(C) 0.066	intergenic variant	*GBA3*
rs1136002539	5	66713628	5.96E-07	A/C	(C) 0.098	intron variant	*ENSECAG00000029394*
rs1140713201	6	51254530	7.10E-06	T/C	(C) 0.131	intergenic variant	*SOX5 BCAT1*
rs1148936458	12	22186622	6.46E-06	T/C	(C) 0.052	intergenic variant	*INCENP*
rs1140833161	12	12019674	7.82E-06	T/C	(C) 0.197	synonymous variant	*MTCH2*
rs1138079567	12	27038414	7.09E-06	G/A	(A) 0.111	5 prime UTR variant	*ENSECAG00000030790*
rs1143966323	14	80457735	3.07E-06	G/A	(A) 0.098	intergenic variant	*RASA1, EDIL3, HAPLN1*
rs393801479	18	34222741	2.45E-06	C/T	(C) 0.085	intron variant	*STAM2*
rs1138016965	20	49320962	1.40E-06	G/T	(T) 0.157	intergenic variant	*TFAP2D, TFAP2B, PKHD1, IL17A, IL17F, MCM3*
rs1144502606	20	49320912	1.40E-06	T/C	(C) 0.157	intergenic variant	*TFAP2D, TFAP2B, PKHD1, IL17A, IL17F, MCM3*
rs1140720551	21	26929291	4.45E-07	A/G	(G) 0.190	intergenic varian	*DAB2*
rs69224996	21	26750556	4.63E-07	A/G	(G) 0.105	intron variant	*ENSECAG00000040491*
rs396864707	21	26725393	2.13E-06	G/A	(A) 0.203	intron variant	*ENSECAG00000038439*
rs395643783	21	26428669	2.12E-06	G/A	(A) 0.059	intron variant	*ENSECAG00000033113*
rs397230196	26	2625580	2.55E-06	C/T	(T) 0.042	intron variant	*ENSECAG00000004527*
rs1141953361	29	17942647	9.46E-06	A/G	(G) 0.164	intergenic variant	*MALRD1*

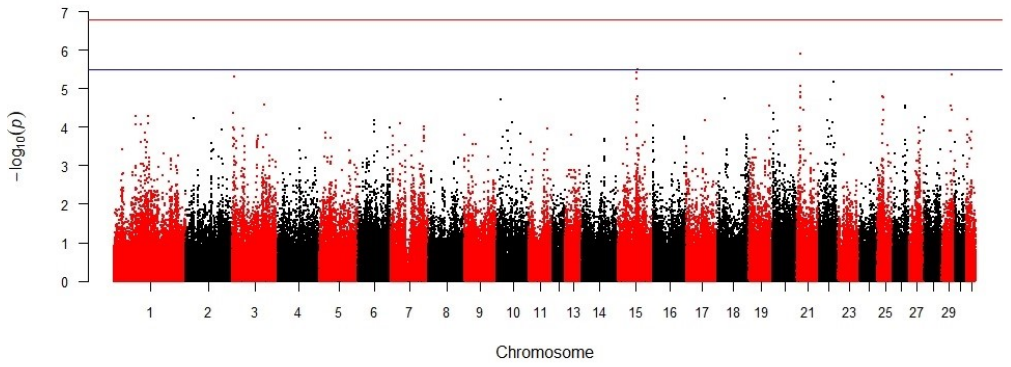


Рисунок 3 – Манхэттенский график GWAS концентрация спермы жеребцов.

Таблица 4 – Однонуклеотидные полиморфизмы, ассоциированные с прогрессивной подвижностью жеребцов

SNP	Хромосома	SNP-Position	P-value	Motif	MAF	Расположение	Кандидатные гены
rs1139020935	1	125935073	6.29E-06	T/G	(G) 0.485	intergenic variant	*PIAS1 SKOR1*
rs396922769	4	60562305	6.14E-06	G/T	(T) 0.268	intergenic variant	*PRR15 WIPF3*
rs69002540	15	42321830	3.28E-06	A/C	(C) 0.268	intergenic variant	*BCL11A FANCL*
rs1143223165	28	3587836	6.57E-06	A/G	(G) 0.104	intergenic variant	*ATXN7L3B KCNC1*
rs69417886	29	24334977	9.83E-06	A/C	(C) 0.463	intron variant	*CELF2*

Коэффициенты изменчивости по всем изучаемым признакам были достаточно высокими от 34,6 до 50,6%. В нашей выборке были животные как со стабильно очень хорошим качеством спермы, так и со стабильно плохим. Были животные, у которых качество спермы сильно варьировало. Такая вариабильность изучаемых признаков дает возможность предположить, что их формирование в процессе онтогенеза происходит под влиянием генетических факторов. Проведенный GWAS анализ по объему эякулята, концентрации и прогрессивной подвижности сперматозоидов показал потенциальные SNP ассоциированные с данными показателями. GWAS идентифицировал 14 предполагаемых SNP, расположенных на 7 хромосомах, связанных с объемом эякулята жеребцов (рис. 2, таблица 3).

Важной характеристикой производства спермы является концентрация сперматозоидов [8]. Предполагается, что найденные гены-кандидаты в регионах с найденными SNP связаны с формированием концентрации сперматозоидов в эякуляте (рис.3). На хромосоме 15 была идентифицирована область размером около 3 МБ (49561973-52355746). Внутри были обнаружены три значимых SNP - rs1148154272, rs1147919841, rs1136353842. Был идентифицирован регион, который включает гены, в той или иной степени влияющие на выработку сперматозоидов: NRXN1, FSHR, LHCGR,

GTF2A1L, STON1, PPP1R21, FOXN2, FBXO11, MSH6.

Гены GTF2A1L (ALF) и STON1 участвуют в сперматогенезе. Хуанг и др. (2006) показали, что аномальная экспрессия ALF у людей может быть частичной причиной мужского бесплодия [9]. В результате GWAS-анализа подвижности свежей спермы предполагаемые SNP были обнаружены в области генов PIAS1, SKOR1, WIPF3, PRR15, BCL11A, FANCL, ATXN7L3B, KCNC1, CELF2 (табл.4). Эффект PIAS1 на мРНК сильно выражен в сперматоцитах и клетках Сертоли во время сперматогенеза у крыс [10]. Максимальная экспрессия SKOR1 у человека отмечена в яичках (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/390598).

Ген WIPF3 высоко экспрессируется в семенниках, особенно в клетках Сертоли, которые содержат предшественников сперматозоидов и играют важную роль в сперматогенезе. У мышей с нокаутом CR16 сперма имела аномальную морфологию головки и значительно снижала фертильность в экспериментах по оплодотворению in vitro [11]. Другое исследование, направленное на секвенирование тестикулярного транскриптома у сезонно размножающихся рыб Channa punctatus, выявило предполагаемую экспрессию транскриптов, связанных со сперматогенезом и организацией цитоскелета [12]. На хромосоме 15 rs69002540 расположен в межгенной области между генами lncRNA. Гены, кодирующие белок, BCL11A и FANCL, расположены на предполагаемом расстоянии более 1 Мб. Функция FANCL - выживание развивающихся половых клеток [13]. Ген KCNC1 кодирует член семейства интегральных мембранных белков, которые опосредуют потенциал-зависимую проницаемость для ионов калия возбудимых мембран.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, можно сделать вывод, что ассоциации, выявленные в нашем исследовании, являются многообещающими кандидатами для дальнейшего выявления биологических механизмов, лежащих в основе качества спермы жеребцов.

GENETIC BASES OF SEMEN QUALITY IN STALLIONS

Nikitkina E.V.* - Ph.D. biological sciences, laboratory of developmental biology (ORCHID 0000-0002-8496-5277)

Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding — Branch of the L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry

* nikitkinae@mail.ru

Funding: *The work was carried out with the financial support of the Ministry of Education and Science, project No. 121052600354-7*

ABSTRACT

One of the important factors affecting the reproductive function is the genotype of the animal. The method of genomic selection is based on the use of polymorphic single nucleotide substitutions (SNP) as markers for determining the value of the genotype of an animal or plant. The formation and functioning of the reproductive system of animals occurs as a result of the coordinated interaction of a wide range of genes. The search for genomic associations of GWAS (Genome-Wide Association Studies) with signs of fertility will allow further selection of animals based on these indicators at the genomic level. Sperm was obtained with the help of mares in hunting and on a phantom using an artificial Hannover vagina (Minitube, Germany). The sperm of each stallion was collected at least three times. The semen quality of 96 stallions of different breeds (Arabian, Akhal-Teke, Trakenen, thoroughbred horse, Oryol trotter, French trotter, Soviet heavy horse, Shetland pony, Welsh pony, horses of different breeds) was analyzed. High variability of sperm quality indicators was revealed. For example, the concentration of sperm in the ejaculate varied from 59 to 514 million /ml, progressive mobility from 20 to 87%, and the number of cells without damage from 21.6 to 95.6%. Such variability of the studied features makes it possible to assume that their formation in the process of ontogenesis occurs under the influence of genetic factors. The GWAS analysis of ejaculate volume, concentration and motility of stallion sperm revealed potential candidate

genes associated with these indicators. The associations identified in our study are promising candidates for further identification of the biological mechanisms underlying the quality of stallion sperm.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Никиткина, Е.В. Поиск геномных ассоциаций с качеством спермы быков голштинской и черно-пестрой породы / Е.В. Никиткина, К.В. Племяшов, А.А. Мусидрай, А.А. Кудинов, А.А. Крутикова, Н.В. Дементьева // Генетика и разведение животных. - 2019.- № 4.- С.9-13. - https://doi.org/10.31043/2410-2733-2019-3-3-10

2.Мороз, Л.Г. Полярографический метод оценки энергетического обмена в сперме по стимуляции дыхания 2,4 – динитрофенолом / Л.Г. Мороз, И.Ш. Шапиев // Бюллетень государственного научного учреждения Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных - 1978. - № 33. - С. 28-30.

3.Leeb, T. The horse genome project--sequence based insights into male reproductive mechanisms / T. Leeb // Reprod. Dom. Anim. - 2007. - №42. – С. 45–50. -https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2007.00897.x

4.Beurois, J. CFAP70 mutations lead to male infertility due to severe astheno-teratozoospermia/ J. Beurois; G. Martinez, G.; C. Cazin, C.; Z. Kherraf, Z. E.; A. Amiri-Yekta, N. Thierry-Mieg, M. Bidart, G. Petre, V. Satre, S. Brouillet, A. Touré, C. Arnoult, P. Ray, C. Coutton // A case report. - Hum. Reprod. – 2019. - № 34. – С. 2071–2079. - https://doi.org/10.1093/humrep/dez166

5.Fagerberg, L. Analysis of the human tissue -specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics/ L. Fagerberg, B. Hallström, P. Oksvold, C. Kampf, D. Djureinovic, J. Odeberg, M. Habuka, S. Tahmasebpoor, A. Danielsson, K. Edlund, A. Asplund, E. Sjöstedt, E. Lundberg, C. Szigyarto, M. Skogs, J. Takanen, H. Berling, H. Tegel, J. Mulder, P. Nilsson, J. Schwenk, C. Lindskog, F. Danielsson, F. Mardinoglu, A. Sivertsson, K. von Feilitzen, M. Forsberg, M. Zwahlen, I. Olsson, S. Navani, M. Huss, J. Nielsen, F. Ponten, M. Uhlén// Mol. Cell. Proteomics. - 2014. - № 13. – С. 397–406. - https://oi.org/10.1074/mcp.M113.035600

6.Liu, J. Functional SNPs of INCENP Affect Semen Quality by Alternative Splicing Mode and Binding Affinity with the Target BtamiR-378 in Chinese Holstein Bulls/ J.Liu, Y. Sun, C. Yang, Y. Zhang, Q. Jiang, J. Huang, Z. Ju, X. Wang, J. Zhong, C.Wang// PloS one. - 2016. - № 11. –С. e0162730. - https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162730

7.Leahy, T. Quantitative Proteomic Analysis of Seminal Plasma, Sperm Membrane Proteins, and Seminal Extracellular Vesicles Suggests Vesicular Mechanisms Aid in the Removal and Addition of Proteins to the Ram Sperm Membrane/ T. Leahy, J. Rickard, T. Pini, B. Gadella, S. de Graaf// Proteomics.- 2020. - №20.- С. e1900289. -https://doi.org/10.1002/pmic.201900289

8.Атрощенко, М.М., Биохимические маркеры качества спермы жеребцов (обзор)/ М.М. Атрощенко, Д.В. Медведев// Сельскохозяйственная биология – 2023. - Т. 58. - № 2. - С. 249-259. doi: 10.15389/agrobiology.2023.2.249rus

9.Huang, M. Involvement of ALF in human spermatogenesis and male infertility/ M. Huang, H. Wang, J. Li, Z. Zhou, Y. Du, M. Lin, J. Sha, J.//Int. J. Mol. Med. – 2006. - № 17. – С. 599–604. - https://doi.org/10.3892/ijmm.17.4.599

10.Yan, W. Expression of the E3 SUMO-1 ligases PIASx and PIAS1 during spermatogenesis in the rat/ W. Yan, H. Santti, O. Jänne, J. Palvimo, J. Toppari // Gene Expr. Patterns. – 2003. - №3. – С. 301–308. - https://doi.org/10.1016/S1567-133X(03)00045-0

11.Suetsugu, S. Male-specific sterility caused by the loss of CR16/ S. Suetsugu, Y. Banzai, M. Kato, K. Fukami, Y. Kataoka, Y. Takai, N. Yoshida, T. Takenawa //Genes Cells. – 2007.-№ 12. – С. 721–733 - https://doi.org/10.1111/j.1365-2443.2007.01088.x

12.Roy, A. De novo sequencing and comparative analysis of testicular transcriptome from different reproductive phases in

freshwater spotted snakehead Channa punctatus / A. Roy, R. Basak, U. Rai // PLoS One. - 2017. - №12. – C. e0173178. -https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173178

13.Rodríguez-Marí, A. Sex reversal in zebrafish fancl mutants is caused by Tp53-mediated germ cell apoptosis/ A. Rodríguez-Marí, C. Cañestro, R. BreMiller, A. Nguyen -Johnson, K. Asakawa, K. Kawakami, J. Postlethwait,// PLoS Genet. – 2010.-№6. – C. e1001034. - https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001034

REFERENSES

1.Nikitkina E. / E. Nikitkina E., K. Plemyashov, A. Musidray, A. Kudinov, A. Krutikova, N. Demetieva // Search for genomic associations with sperm quality of Holstein and Black and White bulls. Genetics and breeding of animals. 2019:4:9-13. (In Russ.) https://doi.org/10.31043/2410-2733-2019-3-3-10

2.Moroz, L.G. Polarographic method for assessing energy metabolism in sperm by stimulating respiration with 2,4-dinitrophenol / L.G. Moroz, I.Sh.. Shapiev // Bulletin of the state scientific institution All-Russian Scientific Research Institute of Genetics and Breeding of Farm Animals. 1978: 33: 28-30.

3.Leeb, T. The horse genome project--sequence based insights into male reproductive mechanisms / T. Leeb // Reprod. Dom. Anim.2007:42:45 –50. -https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2007.00897.x

4.Beurois, J. CFAP70 mutations lead to male infertility due to severe astheno-teratozoospermia/ J. Beurois; G. Martinez, G.; C. Cazin, C.; Z. Kherraf, Z. E.; A. Amiri-Yekta, N. Thierry-Mieg, M. Bidart, G. Petre, V. Satre, S. Brouillet, A. Touré, C. Arnoult, P. Ray, C. Coutton // A case report. - Hum. Reprod. 2019:34:2071–2079. -https://doi.org/10.1093/humrep/dez166

5.Fagerberg, L. Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics/ L. Fagerberg, B. Hallström, P. Oksvold, C. Kampf, D. Djureinovic, J. Odeberg, M. Habuka, S. Tahmasebpoor, A. Danielsson, K. Edlund, A. Asplund, E. Sjöstedt, E. Lundberg, C. Szigyarto, M. Skogs, J. Takanen, H. Berling, H. Tegel, J. Mulder, P. Nilsson, J. Schwenk, C. Lindskog, F. Danielsson, F. Mardinoglu, A. Sivertsson, K. von Feilitzen, M. Forsberg, M. Zwahlen, I. Olsson, S. Navani, M. Huss, J. Nielsen, F. Ponten, M. Uhlén// Mol. Cell. Proteomics. 2014:13:397–406. - https://oi.org/10.1074/mcp.M113.035600

6.Liu, J. Functional SNPs of INCENP Affect Semen Quality by Alternative Splicing Mode and Binding Affinity with the Target Bta-miR-378 in Chinese Holstein Bulls/ J.Liu, Y. Sun, C. Yang, Y. Zhang, Q. Jiang, J. Huang, Z. Ju, X. Wang, J. Zhong, C.Wang// PloS one. 2016:11: e0162730. - https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162730

7.Leahy, T. Quantitative Proteomic Analysis of Seminal Plasma, Sperm Membrane Proteins, and Seminal Extracellular Vesicles Suggests Vesicular Mechanisms Aid in the Removal and Addition of Proteins to the Ram Sperm Membrane/ T. Leahy, J. Rickard, T. Pini, B. Gadella, S. de Graaf// Proteomics. 2020:20:e1900289. -https://doi.org/10.1002/pmic.201900289

8.Atroshchenko, M.M., Biochemical markers of stallion sperm quality (review) / M.M. Atroshchenko, D.V. Medvedev // Agricultural biology .2023:T.58:2:249-259. doi: 10.15389/agrobiology.2023.2.249rus

9.Huang, M. Involvement of ALF in human spermatogenesis and male infertility/ M. Huang, H. Wang, J. Li, Z. Zhou, Y. Du, M. Lin, J. Sha, J.//Int. J. Mol. Med.2006:17:599–604. - https://doi.org/10.3892/ijmm.17.4.599

10.Yan, W. Expression of the E3 SUMO-1 ligases PIASx and PIAS1 during spermatogenesis in the rat/ W. Yan, H. Santti, O. Jänne, J. Palvimo, J. Toppari // Gene Expr. Patterns. 2003:3:301–308. - https://doi.org/10.1016/S1567-133X(03)00045-0

11.Suetsugu, S. Male-specific sterility caused by the loss of CR16/ S. Suetsugu, Y. Banzai, M. Kato, K. Fukami, Y. Kataoka, Y. Takai, N. Yoshida, T. Takenawa //Genes Cells. 2007:12:721–733 - https://doi.org/10.1111/j.1365-2443.2007.01088.x

12.Roy, A. De novo sequencing and comparative analysis of testicular transcriptome from different reproductive phases in freshwater spotted snakehead Channa punctatus / A. Roy, R. Basak, U. Rai // PLoS One.2017:12:e0173178. -https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173178

13.Rodríguez-Marí, A. Sex reversal in zebrafish fancl mutants is caused by Tp53-mediated germ cell apoptosis/ A. Rodríguez-Marí, C. Cañestro, R. BreMiller, A. Nguyen-Johnson, K. Asakawa, K. Kawakami, J. Postlethwait, // PLoS Genet.2010:6: e1001034. - https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001034

УДК:602.9:636.39.082.453.52
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.421

ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ И КОСТНОГО МОЗГА КОЗЛОВ НА КАЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ИХ СПЕРМАТОЗОИДОВ

Корочкина Е.А.[1]* – канд. ветеринар. наук, доц. кафедры генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID 0000-0002-7011-4594); **Трифонова А.В.**[2] – канд. биол. наук, директор по науке; **Финагеев Е.Ю.**[1] – канд. ветеринар. наук, асс. кафедры генетических и репродуктивных биотехнологий; **Главацкая Д.Е.**[1] – студ.; **Пушкина В. С.**[1] – студ.

[1] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
[2] ООО «ЦитоГенТест»
*e.kora@mail.ru

Ключевые слова: *сперма, козлы-производители, качественные показатели, мезенхимальные столовые клетки из жировой ткани и костного мозга*
Keywords: *sperm, breedinggoats, cryopreservationprotocol, artificialinsemenation*
Финансирование: *РНФ № 23-26-00157 «Влияние МСК из жировой ткани и костного мозга мелких жвачных животных на качественные показатели их сперматозоидов до и после криоконсервации» (соглашение № 23-26-00157 от 13.01.2023).*

Поступила: 15.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Целью настоящих исследований является изучение влияния мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани и костного мозга козлов на качественные показатели их сперматозоидов. Была проведена комплексная оценка качества спермы (объем, концентрация, морфология, подвижность) козлов (n=10) зааненской и чешской породы в возрасте 1-2,5 лет по общепринятым методикам и протоколам. Жировую ткань (ЖТ) и костный мозг (КМ) получали после убоя козлов (n=3) в крестьянско-фермерском хозяйстве Волховского района Ленинградской области. После обработки полученных проб проводили выделение, накопление и криоконсервациюмезенхимальных стволовых клеток, полученных из жировой ткани и костного мозга козлов. Было сформировано три группы проб по 10 в каждой: контрольная (сперматозоиды $7x10^{10}$кл/мл + буфер PBS 100 мкл, pH – 7,4), первая опытная (сперматозоиды $7x10^{10}$кл/мл + МСК ЖТ $2x10^{8}$кл/мл, pH – 7,2), вторая опытная (сперматозоиды $7x10^{10}$кл/мл + МСК КМ $2x10^{8}$кл/мл, pH – 7,2) и проведена четырехэтапная оценка качества спермы: после инкубации спермы с мезенхимальными стволовыми клетками при температуре 38°С 0, 1, 2 и 3 часа. Исходя из полученных результатов, рабочим протоколом использования мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани и костного мозга для спермы козлов-производителей является концентрация МСК - $2x10^{8}$кл/мл и концентрация сперматозоидов козлов - $7x10^{10}$кл/мл. Проведенными исследованиями установлено положительное влияние мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани и костного мозга козлов на качественные показатели их сперматозои-

дов. При этом сперматозоиды в течение трехчасовой инкубации сохраняют жизнеспособность с прогрессивностью движений равной 51,5±8,46 – 51,8±5,2% и количеством морфологически нормальных сперматозоидов, равным 50,40±2,21 - 51,10±3,14% (3 часа после инкубации, МСК из жировой ткани и костного мозга соответственно).

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Козоводство, как одна из традиционных отраслей животноводства, получила широкое распространение по всей территории России. Козы неприхотливы в уходе и способны адаптироваться в различных природно-климатических условиях. К ряду биологических преимуществ коз также относят скороспелость и многоплодность, они универсальны в своей продуктивности и позволяют получить ценное сырье — шерсть, а также молоко, мясо и шкуры. Еще в 1967 году Совет министров СССР выпустил постановление в поддержку отечественного козоводства, однако, активно развивающееся на тот момент овцеводство заняло лидирующие позиции в мясном и шерстном сегменте рынка. В настоящее время козоводство является перспективным и активно развивающимся направлением молочного животноводства, имеющим достаточно высокий спрос на рынке. В связи с интенсификацией козоводства в стране появляется необходимость в рационализации всех производственных процессов и увеличении эффективности воспроизводства поголовья. На сегодняшний день в России не создан стойкий отечественный генофонд ценных козлов-производителей, позволяющих передавать свои качества потомству. Ввиду этого встает вопрос о наиболее эффективном использовании генетического материала имеющихся в стране высокоценных производителей. Введение в практику метода искусственного осеменения позволяет значительно увеличить темп селекционно-племенной работы, уменьшает нагрузку на ценных козлов-производителей, снижает риски возникновения болезней, передающихся половым путем, что способствует существенному повышению продуктивности животных. Однако, данный метод осеменения не нашел широкого применения в козоводстве. Одной из причин этого стала низкая криорезистентность сперматозоидов козлов-производителей. Так, по данным Аксеновой П.В. и Ермакова А.М. (2015), после процесса заморозки сохранность подвижных сперматозоидов снижается до 40-50%, однако, при этом оплодотворяющая способность оттаянной спермы не превышает 35%. Данные указывают на значительные деструктивные изменения в структуре мембраны и акросомы сперматозоидов после глубокой заморозки [1, 10].

В связи с этим актуальным является разработка сред или средовых компонентов, обладающих регенеративными и протекторными свойствами. Особый интерес в данном вопросе представляет влияние мезенхимальных стволовых клеток (далее – МСК) и их секретома на качественные показатели спермы козлов-производителей.

МСК – мультипотентные клетки, обладающие способностью к самообновлению и дифференцировке в различные типы клеток мезенхимального происхождения. Многочисленными исследованиями доказана терапевтическая эффективность применения МСК в процессах регенерации клеток/тканей. Некоторые данные указывают на то, что микровезикулы, секретируемые МСК, участвуют в регенерации поврежденных эндогенных клеток, что можно рассматривать как эффективный биологический подход для поддержания и улучшения качественных показателей сперматозоидов [3, 5, 7, 9].

Целью настоящих исследований является изучение влияния мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани и костного мозга козлов на качественные показатели их сперматозоидов. Для реализации поставленной цели были определены следующие задачи: разработка протокола использования мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани и костного мозга козлов, установление степени переживаемости сперматозоидов в средах, содержащих мезенхимальные

стволовые клетки и проведением оценки качества сперматозоидов. Данная работа является основой для дальнейшего исследования с перспективой использования протокола криоконсервации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIIALS AND METHODS

Исследования были проведены в научно-образовательной лаборатории по трансплантации эмбрионов животных на базе ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины», а также на базе научного центра ООО «ЦитоГенТест». Были проведены взятие и исследование спермы козлов зааненской и чешской породы в возрасте 1-2,5 лет. Всего было взято 10 образцов (n=10). Отбор проб был произведен с помощью искусственной вагины модели IMV (Франция) согласно ГОСТ32222–2013 [4].

Оценка спермы состояла из макро- и микроскопического исследований. При макроскопической оценке проводили исследование объема, запаха и цвета спермы, при микроскопической - определение концентрации, исследование морфологии и подвижности [6, 8].

Исследование проводилось с помощью микроскопа Levenhuk MED 45T. Для подсчета концентрации сперматозоидов использовалась камера Горяева [2]. Оценка морфологии и подвижности сперматозоидов проводилась с использованием программы Аргус-CASA. Полученные образцы были разведены в соотношении 1:100. Оценка аликвоты спермы производилась под увеличением 10х10 с использованием камеры Маклера. При оценке подвижности учитывались следующие кинематические параметры подвижности: VAP - средняя скорость движения головки по усредненной траектории, мкм/сек; VSL - скорость прямолинейного движения головки, мкм/сек; VCL - средняя скорость движения сперматозоидов по реальной траектории, мкм/сек; ALH – среднее отклонение головки, мкм; BCF - частота колебательных усредненных движений, Гц; STR - степень прямолинейности направленного движения сперматозоидов, %; LIN - степень волнистости треков, %; WOB - процент осцилляции, %. Для оценки морфологии использовалась окраска по Романовскому-Гимзе с предварительной фиксацией мазков (фиксатор: триарилметан, растворенный в метиловом спирте, 7 минут). Экспозиция мазка в красителе составила 20 минут. Далее была проведена микроскопия (увеличение с использованием иммерсионного объектива100х10, иммерсионное масло). При оценке морфологии учитывалось количество нормальных сперматозоидов, а также количество сперматозоидов с дефектами головки, шейки и хвостовой части.

Жировую ткань (ЖТ) и костный мозг (КМ) получали после убоя козлов зааненской и чешской породы (n=3) в крестьянско-фермерском хозяйстве Волховского района Ленинградской области. ЖТ (2 $см^3$) вырезали в области брюшины (мезогастрий) и помещали в стерильную пробирку с 10 мл транспортировочной среды (буферный раствор, содержащий 100 ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина, Gibco, США). КМ (3 $см^3$) брали из бедренной кости иглой для аспирации костного мозга и переносили в стерильную пробирку с гепарином. Пробирки с биоматериалом доставляли в лабораторию при 4 – 8 ^{0}С в течение 3 часов.

В лаборатории биотехнологии научного центра ООО «ЦитоГенТест» пробы обрабатывали. Жировую ткань в условиях ламинарного бокса несколько раз тщательно промывали стерильным буфером PBS, измельчали при помощи микроножниц и инкубировали 45 мин при 37 ^{0}С в 0,075%-ном растворе коллагеназы (тип 2) (ПанЭко, Россия) при постоянном помешивании. Фермент инактивировали добавлением эмбриональной телячьей сыворотки (FBS) (HyClone, США), клетки осаждали центрифугированием (10 мин при 1000 об/мин). Жидкую фазу с крупными кусками ткани и зрелыми жировыми клетками удаляли пипеткой Пастера, осадок ресуспендировали в среде αMEM. Затем полученную суспензию фильтровали через сетчатый фильтр с размером пор 100 мкм, фильтрат вновь центрифугиро-

вали (10 мин при 1000 об/мин), полученный осадок разводили средой αMEM + 10 % FBS и высевали в культуральные флаконы площадью 25 $см^2$. Через 24 ч среду заменяли и удаляли неприкрепленные клетки. Монослой МСК ЖТ формировался к 10 суткам после выделения.

КМ разбавляли 1:1 стерильным раствором PBSc 100 ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина, центрифугировали 10 мин при 1000 об/мин, надосадочную жидкость удаляли, осадок вновь разбавляли стерильным раствором PBS с антибиотиками и центрифугировали, как описано выше. Отмывание клеток проводили еще раз. Затем к осадку добавляли среду αMEM + 10 % FBS и высевали в культуральные флаконы площадью 25 $см^2$. Через 24 часа среду заменяли и удаляли неприкрепленные клетки. Спустя 48 часов процедуру повторили. Монослой МСК КМ формировался к 10 суткам после выделения.

В дальнейшем выделенные МСК пассировали для увеличения их количества. На втором пассаже клетки криоконсервировали и депонировали в Криобанке ООО «ЦитоГенТест».

Для проведения экспериментов по влиянию МСК на сохранность и поддержание качества спермы козлов клетки деконсервировали и культивировали в среде αMEM + 10 % FBS. Начиная с 3-го пассажа после размораживания, их использовали в работе. Для этого МСК отделяли от подложки, отмывали от ростовой среды и суспендировали в PBS с концентрацией $2x10^8$кл/мл.

Было сформировано три группы проб по 10 в каждой: контрольная (сперматозоиды $7x10^{10}$кл/мл + буфер PBS 100 мкл, pH – 7,4), первая опытная (сперматозоиды $7x10^{10}$кл/мл + МСК ЖТ $2x10^8$кл/мл, pH – 7,2) и вторая опытная (сперматозоиды $7x10^{10}$кл/мл + МСК КМ $2x10^8$кл/мл, pH – 7,2). С целью установления степени переживаемости сперматозоидов в средах, содержащих мезенхимальные стволовые клетки и определения их влияния на качественные показатели сперматозоидов была проведена четырехэтапная оценка качества спермы: 0, 1, 2 и 3 часа после инкубации спермы с мезенхимальными стволовыми клетками при температуре 38°С. Сравнение значений производилось на каждом этапе инкубации (0, 1, 2 и 3 часа) внутри каждой группы. При этом достоверными считались различия при $p\leq0,01$ и $p\leq0,05$.

Статистическая обработка данных была проведена при помощи программы Stattech и Medstatistic «Медицинская Статистика» с вычислением показателей вариационного ряда и t-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Согласно ранее проведенным исследованиям, за основу был взят протокол использования мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани и костного мозга в концентрации $2x10^8$кл/мл и сперматозоидов самцов баранов в концентрации $7x10^{10}$кл/мл.

Согласно результатам комплексной оценки качества, сперма козлов была желтого цвета, имела специфический запах, объем в среднем составлял 0.7±0.05 мл, концентрация – 7.71±0.95 млрд.

Результаты сравнительного анализа влияния мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани и костного мозга козлов на морфофункциональные характеристики их сперматозоидов отражены на рисунках 1-3, а также в таблице 1.

В процессе анализа морфологических показателей сперматозоидов (рис.1), было установлено закономерное и статистически значимое снижение количества нормальных сперматозоидов и увеличение количества сперматозоидов с дефектами в структуре головки и хвостовой части в процессе трехчасовой инкубации спермы в различных средах (буфер PBS, мезенхимальные стволовые клетки из жировой ткани и костного мозга).

Наиболее выраженные изменения в морфологической структуре сперматозоидов наблюдались в контрольной группе, в частности статистически значимое снижение количества нормальных сперматозоидов в процессе трехчасовой инкубации в 1,3; 1,4, и 1,5 раз ($p\leq0,01$) по сравнению с

показателями 0 часов инкубации. Данная тенденция отмечалась также в опытных группах: первой опытной группе (МСК ЖТ) – в 1,2 (1, 2 часа после взятия, ($p \leq 0,01$)) и 1,4 раза (3 часа после взятия, ($p \leq 0,01$)); второй опытной группе (МСК КМ) – в 1,2 ($p \leq 0,05$), 1,3 и 1,4 раз, ($p \leq 0,01$). В процессе трехчасовой инкубации образцов наблюдалось статистически значимое увеличение таких патологических форм сперматозоидов как дефекты головки и хвостовой части. При этом достоверная разница значений среди количества сперматозоидов с дефектами головок наблюдалась в контрольной и второй опытной (МСК КМ) группах спустя 2 и 3 часа инкубации в 2,1 ($p \leq 0,01$); 2,2 ($p \leq 0,05$) раз, а также 1,9 и 1,7($p \leq 0,05$) раз соответственно по сравнению со значениями 0 часов после взятия спермы. Кроме того, было зафиксировано статистически значимое увеличение сперматозоидов с дефектами хвоста после 1го, 2го и 3го часа инкубации образцов во всех исследуемых группах, а именно в контрольной группе в 2,6 ($p \leq 0,01$); 3,0 ($p \leq 0,05$) и 3,4 ($p \leq 0,01$) раз; в первой опытной группе (МСК ЖТ) в 2,0 ($p \leq 0,05$); 2,1 и 2,5 ($p \leq 0,01$) раз; во второй опытной группе (МСК КМ) в 2,2; 2,3 и 2,6 ($p \leq 0,01$) раз соответственно по сравнению с показателями 0 часов инкубации. Таким образом, в процессе трехчасовой инкубации спермы в различных средах (с МСК и без них) наблюдается нарушение морфологической целостности сперматозоидов. При этом наибольшее количество патологических форм отмечается в контрольной группе (буфер PBS). Количество нормальных сперматозоидов после проведения трехчасовой инкубации спермы составило 47,30±4,96% / 50,40±2,21%/ 51,10±3,14% в контрольной группе, первой (МСК ЖТ) и второй (МСК КМ) опытной группах соответственно.

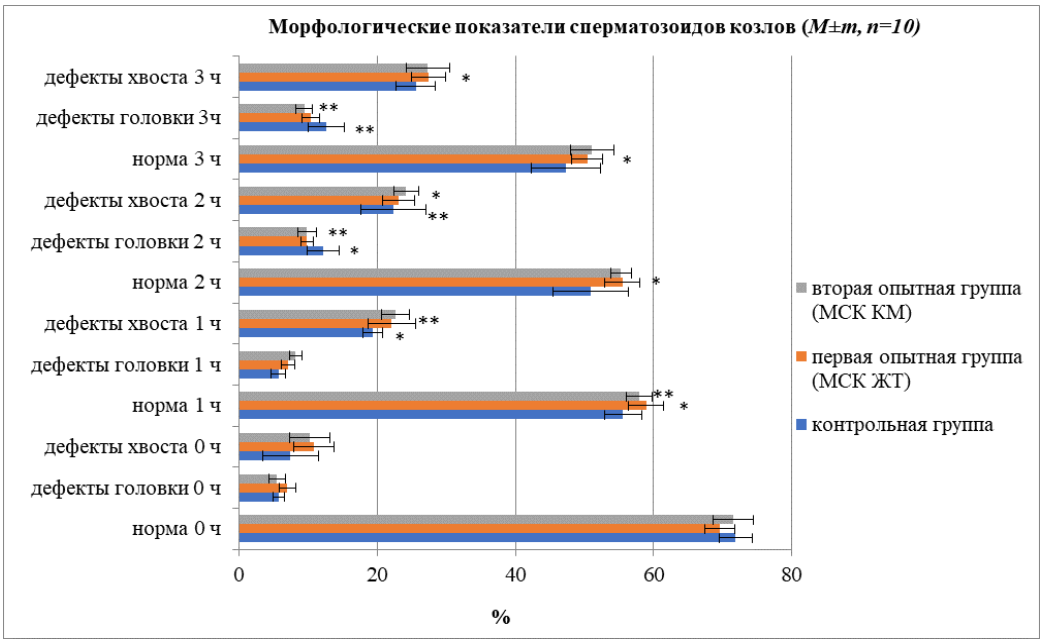


Рисунок 1 – Морфологические показатели сперматозоидов козлов (M±m, n=10).

*Примечание: * - $p \leq 0,01$, ** - $p \leq 0,05$ (достоверно по сравнению с результатами 0 часов инкубации спермы)*

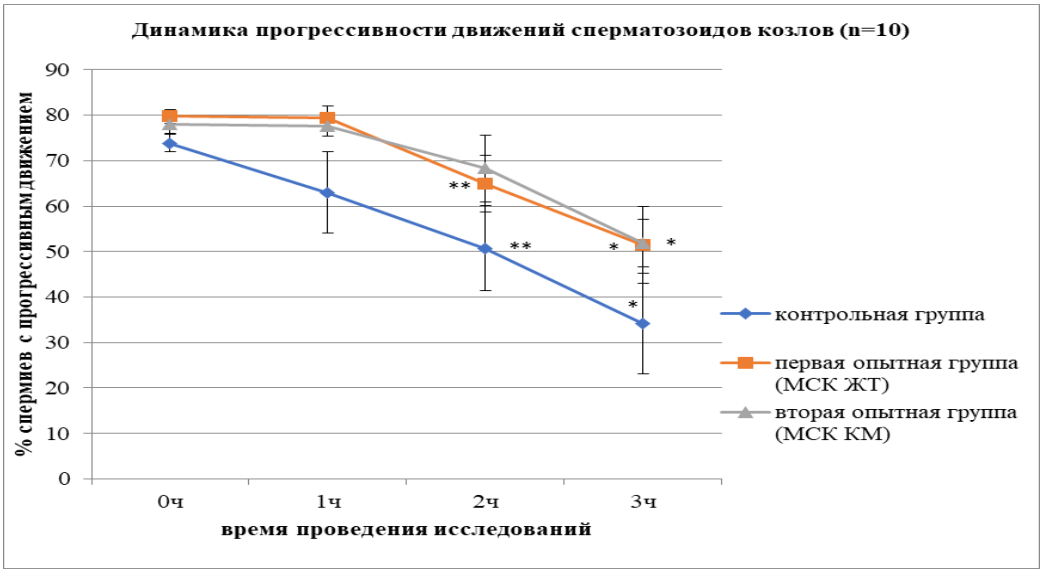


Рисунок 2 – Динамика подвижности сперматозоидов козлов (M±m, n=10).

*Примечание: * - p<0,01, ** - p≤0,05 (достоверно по сравнению с результатами 0 часов инкубации спермы)*

Результаты двигательной активности сперматозоидов, находящихся в различных средах в процессе трехчасовой инкубации отражены на рисунках 2 и 3, в таблице1.

Так, снижение количества прогрессивно двигающихся сперматозоидов наблюдалось во всех группах, однако, в контрольной группе данная тенденция была наиболее выраженной.

При анализе полученных данных (рис.2), статистически значимая разница наблюдалась при сравнении значений прогрессивно двигающихся сперматозоидов после 2 и 3 часов инкубации в контрольной (снижение в 1,4 ($p \leq 0,05$); 2,1 ($p < 0,01$) раз) и первой опытной (МСК ЖТ: снижение в 1,2 ($p \leq 0,05$); 1,5($p < 0,01$) раз), после 3 часов во второй опытной группе (МСК КМ: снижение в 1,5 ($p < 0,01$) раз) соответственно по сравнению со значениями, полученными при оценки подвижности 0 часов инкубации спермы.

Количество неподвижных сперматозоидов закономерно возрастало во всех исследуемых группах в процессе трехчасовой инкубации образцов (рис.3), при этом достоверная разница была зарегистрирована 2 и 3 часа после инкубации среди неподвижных сперматозоидов контрольной (увеличение в 4,4 и 5,3 ($p < 0,01$) раз) и первой опытной (МСК ЖТ: увеличение в 3,4 и 5,4 ($p < 0,01$) раз) групп, а также второй опытной группы (МСК КМ: увеличение в 3,8 ($p < 0,01$) раз) 3 часа после инкубации по сравнению с показателями 0 часов инкубации спермы.

Таким образом, после трехчасовой инкубации сперматозоидов в средах содержащих мезенхимальные стволовые клетки из жировой ткани и костного мозга козлов, а также в буфере PBS наблюдается снижение активности сперматозоидов, что соответствует биохимическим процессам, протекающим в данных клетках вне организма животного, а также соответствует морфологической картине. Вместе с тем, стоит отметить наиболее выраженную интенсивность данных процессов у сперматозоидов, находящихся в буферных средах без добавления мезенхимальных стволовых клеток. При этом количество прогрессивно двигающихся

сперматозоидов в контрольной, первой и второй опытных группа 3 часа после инкубации составило 34,11±11,04% / 51,50±4,46% и 51,81±5,20% соответственно.

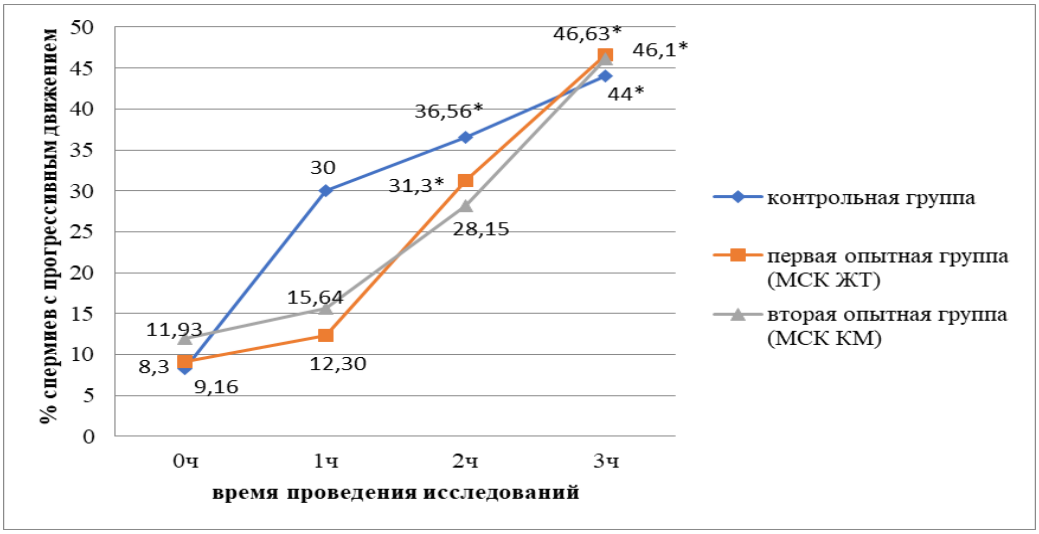


Рисунок 3 – Количество неподвижных сперматозоидов в динамике (M±m, n=10).

*Примечание: * - p<0,01 (достоверно по сравнению с результатами 0 часов инкубации спермы)*

Таблица 1 – Результаты оценки скорости движения сперматозоидов козлов в динамике *(M±m, n=10)*

Время проведения исследований	Показатели скорости движения сперматозоидов (M±m)		
	VSL	VCL	VAP
Контрольная группа (n=10)			
0 ч	948.35±136.64	1256.20±117.52	980.34±135.51
1 ч	822.4±259.23	1236.94±271.60	922.6±256.74
2 ч	502.12±119.13**	747.0±124.27*	547.83±122.95**
3 ч	314.61±123.09*	470.53±172.3*	342.92±131.12*
Первая опытная группа (МСК ЖТ, n=10)			
0ч	877.93±167.03	1171.86±157.20	934.25±166.46
1ч	914.62±163.93	1180.62±174.30	967.30±167.20
2ч	781.50±158.83	940.20±160.40	795.30±158.30
3ч	465,0±128.14	611.20±147.31*	481.56±129.74**
Вторая опытная группа (МСК КМ, n=10)			
0ч	696.90±206.63	929.40±206.75	741.21±210.64
1ч	1060.31±159.93	1259.44±155.7	1089.76±154.62
2ч	447.20±141.8	654.64±157.23	475.51±144.2
3ч	404.05±56.26	620.10±119.8	406.36±71.8

*Примечание: * - p<0,01, ** - p≤0,05 (достоверно по сравнению с результатами 0 часов инкубации спермы)*

При оценке кинематических параметров подвижности сперматозоидов, достоверные различия были получены среди таких параметров как VSL (скорость прямолинейного движения головки), VCL (средняя скорость движения сперматозоидов по реальной траектории), VAP (средняя скорость движения головки по усредненной траектории) (табл.1).

Так, достоверное снижение скорости движения сперматозоидов отмечалось у сперматозоидов контрольной группы преимущественно 2 и 3 часа после инкубации: VSL (в 1,8 ($p \leq 0,05$)и 3,0 ($p < 0,01$) раз), VCL (в 1,7 и 2,6 ($p < 0,01$) раз), VAP(в 1,8 ($p \leq 0,05$) и 2,8 ($p < 0,01$) раз) соответственно по сравнению с показателями 0 часов инкубации спермы. Данная тенденция также наблюдалась у сперматозоидов первой опытной группы (МСК ЖТ). При этом было зафиксировано статистически значимое снижение средней скорости движения сперматозоидов по реальной траектории (VCL, $p < 0,01$) и средней скорости движения головки по усредненной траектории (VAP, $p \leq 0,05$) в 1,9 раза по сравнению с результатами, полученными 0 часов инкубации.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Рабочим протоколом использования мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани и костного мозга для спермы козлов-производителей является концентрация МСК - 2х108кл/мл и концентрация сперматозоидов козлов - 7х1010кл/мл.

Проведенными исследованиями установлено:

1. Время переживаемости сперматозоидов в средах, содержащих мезенхимальные стволовые клетки, составляет 3 часа, при этом сперматозоиды сохраняют жизнеспособность и имеют такие показатели: прогрессивность движений 51,5±8,46 - 51,8±5,2%, количество морфологически нормальных сперматозоидов 50,40±2,21 - 51,10±3,14% (МСК ЖТ и МСК КМ соответственно).

2. Положительное влияние мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани и костного мозга козлов на качественные показатели их сперматозоидов: сохранение прогрессивности движения в течение часа после взятия спермы, достаточно длительное сохранение двигательной активности и структурной целостности сперматозоидов после трехчасовой инкубации по сравнению с показателями контрольной группой (снижение прогрессивности движений и морфологически нормальных сперматозоидов в 2,1 и 1,5 раз (контрольная группа, $p < 0,01$) и в 1,5 и 1,4 раза (опытные группы с МСК, $p < 0,01$) соответственно;

3. Предположительный вывод: среды, содержащие мезенхимальные стволовые клетки из жировой ткани и костного мозга можно использовать в качестве сред/ средовых компонентов, способных регулировать клеточный объем и сохранять гомеостаз. Однако, необходимо дальнейшее проведение исследований жизнеспособности сперматозоидов при 0, 4, 6-часовой инкубации и оценки их качественных показателей.

THE EFFECT OF MESENCHYMAL STEM CELLS FROM THE ADIPOSE TISSUE AND BONE MARROW OF GOATS ON THE QUALITY INDICATORS OF THEIR SPERM

Korochkina E.A.[1]* – PhD. In Veterinary science, Associate Professor, Department of Genetic and Reproductive Technologies; **Trifonova A.V.**[2] – PhD in biological science, the director of science; **Finageev E.Y.**[1] – PhD. In Veterinary sciences, Assistant, Department of Genetic and Reproductive Technologies; **Glavatskaya D.E.**[1] – student; **Pushkina V.S.**[1] – student.

*e.kora@mail.ru

St. Petersburg state academy of veterinary medicine

LTD “CitoGenTest”

Financing: *Russian Science Foundation №. 23-26-00157 “The influence of MSCs from adipose tissue and bone marrow of small ruminants on the quality indicators of their sperm before and after cryopreservation” (agreement №. 23-26-00157 dated 01/13/2023).*

ABSTRACT

The purpose of this research is to study the influence of mesenchymal stem cells from adipose tissue and bone marrow of goats on the quality parameters of their sperm. A complex evaluation of sperm quality (volume, concentration, morphology, motility) of Saanen and Czech goats (n=10) at the age of 1-2.5 years was carried out according to generally accepted methods and protocols. Adipose tissue (AT) and bone marrow (BM) were obtained after the slaughter of goats (n=6) on a peasant farm in the Volkhov district of the Leningrad region. After processing the obtained samples, mesenchymal stem cells obtained from adipose tissue and bone marrow of goats were isolated, accumulated and cryopreserved. Three groups of samples of 10 each were formed: control (spermatozoa 7x1010 cells/ml + PBS buffer 100 µl, pH – 7.4), first experimental (spermatozoa 7x1010 cells/ml + MSCs 2x1010 cells/ml, pH – 7.2), the second was experimental (sperm 7x1010 cells/ml + BM MSCs 2x108 cells/ml, pH – 7.2) and a four-stage assessment of sperm quality was carried out: after incubation of sperm with mesenchymal stem cells at a temperature of 38°C for 0, 1, 2 and 3 hours. Based on the results obtained, the working protocol for the use of mesenchymal stem cells from adipose tissue and bone marrow for the sperm of breeding goats is the concentration of MSCs - 2x108 cells/ml and the concentration of goat spermatozoa - 7x1010 cells/ml. The studies conducted have established the positive effect of mesenchymal stem cells from the adipose tissue and bone marrow of goats on the quality indicators of their sperm. At the same time, spermatozoa remain viable during three-hour incubation with a progression of movements equal to 51.5±8.46 - 51.8±5.2% and a number of morphologically normal sperm equal to 50.40±2.21 - 51.10±3, 14% (3 hours after incubation, MSCs from adipose tissue and bone marrow, respectively).

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Аксёнова П. В., Ермаков А. М. Биология репродукции коз: Монография. - СПб.: Издательство «Лань», 2015. - 134 с.

2.Баженова, Н.Б. Оценка качества спермы животных / Н. Б. Баженова, К.В. Племяшов. - СПб.: «Издательство СПбГАВМ», 2007. – 22 с.

3.Биология стволовых клеток и клеточные технологии. Том 1 / Под ред. М. А. Пальцева. - М.: ОАО Издательство «Медицина», издательство «Шико», 2009. - 272 с.

4.ГОСТ 32222-2013.Средства воспроизводства. Сперма. Методы отбора проб. - Веден 2015-01-27. - М.: Стандарт информ, 2018. – 10 с.

5.Мокаризаде А. и др. Микровезикулы, полученные из мезенхимальных стволовых клеток: трофические челноки для улучшения показателей качества спермы // Репродуктивная токсикология. - 2013. - Т. 42. - С. 78-84.

6.Chandler, J.E. Semen quality characteristics of dairy goats / J.E. Chandler, C.L. Painter, R.W. Adkison, M.A. Memon, P.G. Hoyt // Journal of Dairy Science. - 2008. - Vol. 71. (6). - P. 1638-1646.

7.Gugjoo, M. B. Goat Mesenchymal Stem Cell Basic Research and Potential Applications / M. B. Gugjoo,Amar Pal, M. R. Fazili, R. A. Shah,M. S. Mir G. T. Sharma // Mesenchymal Stem Cell in Veterinary Sciences. - 2020.- P. 153–179.

8.Herrera Vargas, D. Conventional and functional evaluation of semen in male dairy goats / Herrera Vargas, D.; Castano Escobar, M.; Arcila Davila, D.etal. // VeterinarskaStanica. – 2023. - Vol. 54 (2). - P 129-136.

9.Mudasir, B. G. Goat mesenchymal stem cell basic research and potential applications / Mudasir B. G., Amarpal, Mujeeb ur R. F., Riaz A. S.etal. // Small Ruminant Research. -2020.- Vol.-183.

10.Vincent Ramukhithi F., Characterisation of semen and phenotypic parameters in relation to male goat fertility / Vincent Ramukhithi F, Caswell Chokoe T, Ronald T, Christina Lehloenya K. // Goat Science - Environment, Health and Economy. - 2021.

REFERENCES

1. Aksenova P.V., Ermakov A.M. Biology of goat reproduction: Monograph. - St. Petersburg: Lan Publishing House, 2015. - 134 p.
2. Bazhenova, N.B. Assessing the quality of animal sperm / N.B. Bazhenova, K.V. Plemyashov. - St. Petersburg: Publishing House SPbGAVM, 2007. – 22 p.
3. Stem cell biology and cell technology. Volume 1 / Ed. M. A. Paltseva. - M.: OJSC Publishing House "Medicine", publishing house "Shiko", 2009. - 272 p.
4. GOST 32222-2013. Means of reproduction. Sperm. Sampling methods. - Veden 2015-01-27. - M.: Standard Inform, 2018. – 10 p.
5. Mokarizadeh A. et al. Microvesicles obtained from mesenchymal stem cells: trophic shuttles to improve sperm quality indicators // Reproductive toxicology. - 2013. - T. 42. - P. 78-84.
6. Chandler, J.E. Semen quality characteristics of dairy goats / J.E. Chandler, C.L. Painter, R.W. Adkison, M.A. Memon, P.G. Hoyt // Journal of Dairy Science. - 2008. - Vol. 71. (6). - P. 1638-1646.
7. Gugjoo, M. B. Goat Mesenchymal Stem Cell Basic Research and Potential Applications / M. B. Gugjoo,Amar Pal, M. R. Fazili, R. A. Shah,M. S. Mir G. T. Sharma // Mesenchymal Stem Cell in Veterinary Sciences. - 2020.- P. 153–179.
8. Herrera Vargas, D. Conventional and functional evaluation of semen in male dairy goats / Herrera Vargas, D.; Castano Escobar, M.; Arcila Davila, D.etal. // VeterinarskaStanica. – 2023. - Vol. 54 (2). - P 129-136.
9. Mudasir, B. G. Goat mesenchymal stem cell basic research and potential applications / Mudasir B. G., Amarpal, Mujeeb ur R. F., Riaz A. S.etal. // Small Ruminant Research. -2020.- Vol.-183.
10. Vincent Ramukhithi F., Characterisation of semen and phenotypic parameters in relation to male goat fertility / Vincent Ramukhithi F, Caswell Chokoe T, Ronald T, Christina Lehloenya K. // Goat Science - Environment, Health and Economy. - 2021.

УДК: 618:579.62:636.2
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.431

МИКРОБНЫЙ ПЕЙЗАЖ ПОЛОВЫХ ПУТЕЙ ЗДОРОВЫХ КОРОВ С РАЗЛИЧНЫМ СРОКОМ СТЕЛЬНОСТИ

Паршин П.А.[1] * – д-р ветеринар. наук, проф., директор (0000-0002-8790-0540); **Востроилова Г.А.**[1] – д-р биол. наук, гл. науч. сотр. отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем, (ORCID 0000-0002-2960-038X); **Бригадиров Ю.Н.**[1] – д-р ветеринар наук, гл. науч. сотр. отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем (ORCID 0000-0003-3804-1732); **Шапошников И.Т.**[1] – д-р биол. наук, гл. науч. сотр. отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем (ORCID 0000-0003-0190-9083); **Жуков М.С.**[1] – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем (ORCID 0000-0002-9317-7344); **Манжурина О.А.**[1] – канд. ветеринар. наук, зав. лабораторией микробиологии и молекулярно-генетического анализа, (ORCID 0000-0003-0147-8965); **Перепелкина И.С.**[1] – мл. науч. сотр. лаборатории микробиологии и молекулярно-генетического анализа (ORCID 0000-0002-6462-8724); **Якимчук О.В.**[2] – ветеринарный врач.

[1] ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»
[2] ЗАО «Юдановские просторы»
*doktor.57@mail.ru

Ключевые слова: *коровы, беременность, сроки стельности, шеечно-вагинальная слизь, микробиота.*
Keywords: *cows, pregnancy, terms of pregnancy, cervical-vaginal mucus, microbiota.*

Поступила: 06.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ
Учение о нормальной микрофлоре организма человека и животных в настоящее время находится в центре внимания клинических микробиологов и широкого круга специалистов клинического профиля. Известно, что микрофлора влагалища зависит от множества факторов внутренней и внешней среды, поэтому в настоящее время её принято рассматривать как экосистему, обладающую уникальным комплексом механизмов, обеспечивающим его резистентность по отношению к чужеродным микроорганизмам и поддерживающим репродуктивное здоровье. Целью исследования явилось изучение изменения микробиоценоза влагалища у коров в разные периоды стельности. Объектом исследования служили клинически здоровые коровы (n=10) красно-пёстрой породы (голштинизированные), а предметом исследования – шеечно-вагинальная слизь. На 150-160, 210-220 и 260-265 день стельности у коров производился отбор образцов слизи с помощью стерильных зонд тампонов для бактериологических исследований. Установлено, что представители нормофлоры, а также условно-патогенной и патогенной микрофлоры присутствовали во влагалищных выделениях жи-

вотных всех периодов стельности. Однако общая бактериальная обсемененность половых путей у коров в первой половине и во второй половине третьего триместра беременности характеризовалась её снижением на 29,2 и 33,3% соответственно относительно данных полученных во втором триместре. Также необходимо отметить, что ко второй половине третьего триместра беременности наблюдается увеличение облигатной нормофлоры за счёт лакто- и бифидобактерий на 27,1% и в 4 раза соответственно, с преобладанием рода Lactobacillus в количественном отношении. На фоне этого количество транзиторной микрофлоры снижалось на 34,2-57,1% (P<0,05).

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Учение о нормальной микрофлоре организма человека и животных в настоящее время находится в центре внимания клинических микробиологов и широкого круга специалистов клинического профиля [4]. Известно, что микрофлора влагалища зависит от множества факторов внутренней и внешней среды, поэтому в настоящее время её принято рассматривать как экосистему, обладающую уникальным комплексом механизмов, обеспечивающим его резистентность по отношению к чужеродным микроорганизмам и поддерживающим репродуктивное здоровье. Совокупность микроорганизмов, обитающих в этой анатомической нише, принято именовать микробиоценозом влагалища, при этом качественный и количественный состав микрофлоры носит индивидуальный характер [2]. На фоне нарастающих экологических проблем в эру антибиотиков в условиях действия других факторов, влияющих на иммунный баланс макроорганизма, происходят значительные изменения в эволюционно сложившемся микробиоценозе живого организма [1]. Как следствие этого процесса можно рассматривать возрастающую роль условно-патогенных микроорганизмов при инфекционных факторных заболеваниях, особенно при акушерской патологии [1, 2, 5]. В связи с этим основная масса работ, посвященных изучению микрофлоры влагалища коров, ориентирована на определение её роли в этиологии, разработке диагностических подходов и оценки эффективности лечения акушерской патологии. При этом исследований микробиоценоза влагалища во время беременности здоровых коров сравнительно мало. Некоторые ученые склоняются к тому, что микробиом влагалища крупного рогатого скота относительно стабилен и беременность не оказывает на него значимого влияния [8, 10]. Однако, известно, что во время данного процесса организм, помимо гормональных изменений претерпевает иммунологическую перестройку. Установлено, что при физиологическом течение беременности цитокиновый баланс смещается в сторону иммуносупресорных цитокинов, что может влиять на микробиоценоз [3]. Также необходимо отметить, что от микрофлоры влагалища зависит здоровье не только коров, но и новорожденного телёнка, так как во время родов происходит первичная микробная контаминация изгоняемого плода [13]. В результате этого новорожденный приобретает идентичную микрофлору родовых путей матери и в зависимости от её состава определяется риск возникновения ранней неонатальной инфекции [9]. В связи с этим, особую актуальность приобретает изучение микробиоценоза влагалища коров в процессе беременности.

Цель работы – провести оценку динамики микробиоценоза влагалища у клинически здоровых коров в разные периоды стельности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объектом исследования служили клинически здоровые коровы (n=10) красно-пёстрой породы (голштинизированные) со среднесуточным удоем 25-27 кг. Предмет исследований – шеечно-вагинальная слизь. На 150-160, 210-220 и 260-265 день стельности у коров производился отбор образцов шеечно-вагинальной слизи с помощью стерильных зонд тампонов. После забора зонд помещали в сухую стерильную одноразовую пробирку с 800 мкл физиологического раствора. Биологи-

ческий материал доставлялся в лабораторию микробиологии и молекулярно-генетического анализа в термоконтейнере в течение 2 часов с момента отбора. Микробиологические исследования проводили общепринятыми методами с использованием коммерческих питательных сред, тест систем и диагностикумов (МПБ, МПА, Эндо, Плоскирева, МРС, Блаурокка НИЦФ г. Санкт-Петербург). [6]. Дифференциацию осуществляли на основании биохимических и морфолгических свойств выделенных культур. Идентификацию микроорганизмов проводили с помощью «Определителя бактерий Берджи» [11].

Полученные экспериментальные данные подвергали статистической обработке с использованием пакета программ Statistica v10.0 (Stat Soft. Inc. США). Рассчитывали среднюю арифметическую и стандартную ошибку средней. Достоверность различия между выборками оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Статистическая гипотеза считалась достоверной при $P<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Микробный пейзаж половых путей коров (n = 10) со сроком стельности 150-160 дней показал – микрофлора выделена во всех пробах в виде ассоциации из 2-4 видов микроорганизмов. Выделены микроорганизмы 6 видов: бифидобактерии, лактобактерии, энтеробактерии, стафилококки, энтерококки, бациллы. Из облигатной нормофлоры выделены бифидобактерии (100%), лактобациллы (100%). Из факультативной микрофлоры выделены энтерококки в 100% случаев, (Ent. faecium) и Bacillus spp. в 60%. Транзиторные микроорганизмы были представлены энтеробактериями и стафилококками. Энтеробактерии выделены в 50% случаев и представлены лактозопозитивными E. coli. Стафилококки выделены в 40% проб и представлены коагулазоотрицательными стафилакоками Staph. epidermidis. При этом общая бактериальная обсеменённость составила $2,4\pm0,16\times10^3$ КОЕ/мл. Lactobacillus spp. – $4,8\pm0,16\times10^2$ КОЕ/мл.; Bifidobacterium spp. – $0,3\pm0,084\times10^2$ КОЕ/мл., энтеробактерии – $7,9\pm0,26\times10^2$ КОЕ/мл., E. coli (лакт. +) – $1,59\pm0,224\times10^2$ КОЕ/мл., Bacillus spp. – $6,3\pm0,36\times10^2$ КОЕ/мл., Enterococcus faecium – $8,4\pm0,31\times10^2$ КОЕ/мл., Staph. epedermidis – $0,057\pm0,0024\times10^2$ КОЕ/мл.

Проведенными бактериологическими исследованиями 10 проб шеечно-влагальщной слизи коров со сроком стельности 210-220 дней микрофлора выделена в 100% проб в виде ассоциации микроорганизмов. Из облигатной микрофлоры изолированы бифидобактерии и лактобациллы в 100% случаев. Из факультативной микрофлоры выделены Ent. faecium в 60% случаев и Bacillus spp. в 70% проб. Транзиторные микроорганизмы представлены энтеробактериями, в том числе E. coli (лакт. +) в 50% проб. В 30% проб выделены стафилококками, представленые коагулазоотрицательными стафилококками Staph. epidermidis (20%) и коагулазоположительными стафилококками Staph. aureus (10%). При определении общей бактериальной обсеменённости было установлено, что её уровень снизился на 29,2% относительно предыдущего исследования. Среднее количество лакто- и бифидобактерий при этом увеличилось на 43,8% и в 2,3 раза соответственно. Также было отмечено, что на фоне увеличения облигатной микрофлоры произошло снижение количества Ent. faecium на 32,1% и Bacillus spp. на 25,4% (табл.). Среднее количество E. coli (лакт. +) и Staph. epidermidis при этом увеличилось на 25,2 и 94,7% соответственно, но эти данные не имели достоверной значимости.

Бактериологические исследования аналогичного количества проб шеечно-влагалищной слизи коров со сроком стельности 260-265 дней показали, что микрофлора была изолирована в 100% случаев в виде ассоциации микроорганизмов и содержала бактерии 6 видов: бифидобактерии, лактобациллы, энтеробактерии, стафилококки, энтеробактерии, бациллы.

Таблица 1 – Микробный пейзаж шеечно-влагалищного биотопа (КОЕ/мл) коров с различными сроками стельности

Микроорганизмы	Сроки стельности, дни		
	150-160	210-220	260-265
Степень микробной контаминации	$2,4\pm0,16\times10^3$	$1,7\pm0,14\times10^3$*	$1,6\pm0,37\times10^3$*
Lactobacillus spp.	$4,8\pm0,16\times10^2$	$6,9\pm0,27\times10^2$*	$6,1\pm0,71\times10^2$*
Bifidobacterium spp.	$0,3\pm0,084\times10^2$	$0,68\pm0,103\times10^2$*	$1,2\pm0,146\times10^2$*
Enterobacterr spp.	$7,9\pm0,26\times10^2$	$4,6\pm1,2\times10^2$*	$5,2\pm0,58\times10^2$*
E. coli (лакт. +)	$1,59\pm0,224\times10^2$	$1,99\pm0,123\times10^2$	1,99±0,378
Bacillus spp.	$6,3\pm0,36\times10^2$	$4,7\pm1,40\times10^2$	$5,1\pm0,57\times10^2$*
Enterococcus faecium	$8,4\pm0,31\times10^2$	$5,7\pm1,0\times10^2$*	$3,6\pm0,85\times10^2$
Staph. epidermidis	$0,057\pm0,0024\times10^2$	$0,111\pm0,0075\times10^2$	$0,105\pm0,105\times10^2$
Staph. aureus	0	$0,018\pm0,018\times10^2$	$0,003\pm0,003\times10^2$

*Примечание: * – P < 0,05 в сравнении с данными на 150-160 день стельности.*

Из облигатной индигенной микрофлоры изолированы бифидобактерии и лактобациллы в 100% случаев. Из факультативной микрофлоры выделены энтерококки Ent. faecium (50%) и бациллы Bacillus spp. (50%). Транзиторные микроорганизмы были представлены энтеробактериями и стафилококками. Энтеробактерии выделены в 40% случаев и представлены в том числе лактозопозитивными E. coli. Стафилококки выделены в 20% проб и представлены коагулазоотрицательными (Staph. epidermidis – 10%) и коагулазоположительными (Staph. aureus – 10%). При определении общей обсемененности половых путей установлено, что она снизилась на 5,9%. Уровень лактобактерий при этом уменьшился на 11,6% , но был выше исходного уровня на 27,1%. Количество бифидобактерий увеличилось на 76,5% и в 4 раза относительно предыдущего и 1-го исследования соответственно. На фоне увеличения облигатной микрофлоры было отмечено снижение количества Ent. faecium, Staph. epidermidis и Staph. aureus на 36,8; 5,4 и 83,3% соответственно и увеличение Bacillus spp. на 8,5%. При этом необходимо отметить, что общая обсемененность половых путей была ниже аналогичного показателя коров на 150-160 день стельности на 33,3%. Снижение бактериальной обсемененности в течение беременности, сопровождалось уменьшением количества энтеробактерий, Ent. faecium и Bacillus spp. на 34,2; 19,0 и 57,1% соответственно.

Таким образом, полученные результаты показывают, что в третьем триместре беременности происходит микроэкологическая подготовка родовых путей к родам. В тоже же время имеются противоречивые сообщения того, что у коров в течение беременности отсутствуют какие -либо достоверные изменения в составе и структуре микробиоценоза влагалища. На основании этого авторы исследований предполагают, что микробиом влагалища крупного рогатого скота относительно стабилен и беременность не оказывает на него значимого влияния [8, 10].

В свою очередь полученные нами данные, показывают, что микробиом влагалища нестабилен. Начиная с третьего триместра беременности отмечается снижение общей микробной контаминации, которая сопровождается увеличением количества лакто- и бифидобактерий и уменьшением транзиторными микроорганизмами в родовых путях. Мы предполагаем, что изменение структуры обусловлено доминированием лактобактерий, продуцирующих перекись водорода и молочную кислоту [7, 12]. Таким образом, в слизистой оболочке создаётся благоприятная среда для заселения респираторного и желудочного тракта новорож-

денных телят, что снижает риск развития ранней неонатальной инфекции. Однако необходимо отметить, что данный вопрос требует дальнейшего изучения, так как наше микробиологическое исследование имело относительно небольшой размер выборки и требует повторения на более крупной группе.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведённые исследования показали, что представители нормофлоры, а также условно-патогенной и патогенной микрофлоры присутствуют во влагалищных выделениях животных всех периодов стельности. При этом к концу третьего триместра беременности происходит снижение общей бактериальной обсеменённости половых путей представителями факультативной и транзиторной микрофлоры, но увеличение содержания облигатной нормофлоры за счёт лактобацилл и бифидобактерий.

MICROBIAL LANDSCAPE OF THE GENITAL TRACT OF HEALTHY COWS WITH DIFFERENT PREGNANCY PERIODS

Parshin P.A.[1] * – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Director (0000-0002-8790-0540); **Vostroilova G.A.**[1] – Doctor of Biological Sciences, Chief Scientific Officer. sotr. Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems, (ORCID 0000-0002-2960-038X); **Brigadirov Yu.N.**[1] – Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Officer. sotr. Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems (ORCID 0000-0003-3804-1732); **Shaposhnikov I.T.**[1] – Doctor of Biological Sciences, ch. sci. sotr. Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems (ORCID 0000-0003-0190-9083); **Zhukov M.S.**[1] – st. cand. veterinarian. sciences, art. sci. sotr. Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems (ORCID 0000-0002-9317-7344); **Manzhurina O.A.**[1] – st cand. veterinarian. sciences, head. Laboratory of Microbiology and Molecular Genetic Analysis, (ORCID 0000-0003-0147-8965); **Perepelkina I.S.**[1] – ml. scientific. sotr. Laboratories of Microbiology and Molecular Genetic Analysis (ORCID 0000-0002-6462-8724); **Yakimchuk O.V.**[2] – veterinarian.

[1] All-Russian Scientific Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy

[2] CJSC "Yudanovskie prostory"

*doktor.57@mail.ru

ABSTRACT

The doctrine of the normal microflora of the human and animal body is currently in the focus of attention of clinical microbiologists and a wide range of clinical specialists. It is known that the microflora of the vagina depends on many factors of the internal and external environment, therefore, it is now considered to be an ecosystem with a unique set of mechanisms that ensure its resistance to foreign microorganisms and support reproductive health. The aim of the study was to study changes in vaginal microbiocenosis in cows during different periods of pregnancy. The object of the study was clinically healthy cows (n=10) of a red-mottled breed (holshitinized), and the subject of the study was cervical–vaginal mucus. On the 150-160, 210-220 and 260-265 days of pregnancy, mucus samples were taken from cows using sterile probe tampons for bacteriological studies. It was found that representatives of the normoflora, as well as conditionally pathogenic and pathogenic microflora were present in the vaginal secretions of animals of all periods of pregnancy. However, the total bacterial contamination of the genital tract in cows in the first half and second half of the third trimester of pregnancy was characterized by its decrease by 29.2 and 33.3%, respectively, relative to the data obtained in the second trimester. It should also be noted that by the second half of the third trimester of pregnancy, there is an increase in obligate normoflora due to lacto- and bifidobacteria by 27.1% and 4 times, respectively, with the predominance of the genus Lactobacillus in quantitative terms. Against this background, the amount of transient microflora decreased by 34.2-57.1% (P0.05).

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Лаптев Г.Ю., Новикова Н.И., Ильина Л.А., Йылдырым Е.А., Бумова В.А., Корочкина Е.А. Исследование вагинальной слизи высокопродуктивных коров в послеотёльный период посредством ПЦР в реальном времени. Российский ветеринарный журнал. 2014; 3: 10-12.

2.Мелкумян А.Р., Припутневич Т.В., Анкирская А.С., Трофимов Д.Ю., Муравьёва В.В., Муллабаева С.М., Завьялова М.Г. Видовой состав лактобактерий при различном состоянии микробиоты у беременных. Клиническая микробиология и антимикробная химикотерапия. 2013; 15 (1): 72-79.

3.Сашнина Л.Ю., Шахов А.Г., Владимирова Ю.Ю., Никоненко Г.В. Роль цитокинов в обеспечении физиологического течения беременности. Ветеринарный фармакологический вестник. 2022; №3 (20): 144-152. doi: 10.17238/issn2541-8203.2022.3.144

4.Сейтханова Б.Т., Шапамбаев Н.З., Олжаева Р.Р., Калменова П.Е. Микробиоценоз влагалища и кишечника беременных женщин. Наука и здравоохранение. 2014; 1: 70-71.

5.Скориков В.Н., Нежданов А.Г., Михалев В.И. Акушерская и гинекологическая патология у коров первотёлок симментальской породы при разном возрасте ввода их в производство. Ветеринария. 2017; 1: 38-41.

6.Bergey D.H., Krieg N.R., Holt J.G. Bergey's manual of systematic bacteriology. Baltimore, MD : Williams & Wilkins, 1989; 2648 pp.

7.Boris S., Barbés C. Role played by lactobacilli in controlling the population of vaginal pathogens. Microb Infect. 2000; 2: 543–546. doi: 10.1016/S1286-4579(00)00313-0.

8.Deng F., McClure M., Rorie R., Wang X., Chai J., Wei X., Lai S., Zhao J. The vaginal and fecal microbiomes are related to pregnancy status in beef heifers. J Anim Sci Biotechnol. 2019;10: 92. doi: 10.1186/s40104-019-0401-2.

9.Kalinka J., Krajewski P., Sobala W., Wasiela M., Brzezińska-Błaszczyk E. The association between maternal cervicovaginal proinflammatory cytokines concentrations during pregnancy and subsequent early-onset neonatal infection. J Perinat Med. 2006; 34 (5): 371-377. DOI: 10.1515/JPM.2006.075.

10.Laguardia-Nascimento M., Branco K.M., Gasparini M.R., Giannattasio-Ferraz S., Leite L.R., Araujo F.M., Salim A.C., Nicoli J.R., de Oliveira GC, Barbosa-Stancioli E.F. Vaginal Microbiome Characterization of Nellore Cattle Using Metagenomic Analysis. PLoS One. 2015;10 (11): e0143294. doi: 10.1371/journal.pone.0143294.

11.Quinn P.J., Markey B.K., Leonard F.C., FitzPatrick E.S., Fanning S [et al.] Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Wiley-Blackwell, 2011; 912 pp.

12.Verstraelen H., Verhelst R., Claeys G., De Backer E., Temmerman M., Vaneechoutte M. Longitudinal analysis of the vaginal microflora in pregnancy suggests that L crispatus promotes the stability of the normal vaginal microflora and that L gasseri and/or L iners are more conducive to the occurrence of abnormal vaginal microflora. BMC Microbiol. 2009; 9:116. doi: 10.1186/1471-2180-9-116.

13.Zhukov M.S., Alekhin Yu.N. Detection of the upper respiratory tract bacteria in newborn calves. Reproduction in domestic animals. 2022; 57 (S1): 97. DOI: 10.1111/rda.14052.

REFERENCES

1.Laptev G.Yu., Novikova N.I., Ilyina L.A., Yyldyrym E.A., Dumova V.A., Korochkina E.A. Issledovanie vaginal'noj slizi vysokoproduktivnykh korov v posleotyol'nyj period posredstvom PTSR v real'nom vremeni [Research of vaginal bacterial slime matrix of high-yielding cows in postpartum period by real-time pcr-method]. Russian Veterinary Journal. 2014; 3: 10-12.

2.Melkumyan A.R., Priputnevitch T.V., Ankirskaya A.S., Trofimov D.Yu., Muravyova V.V., Mullabaeva S.M., Zavyalova M.G. Vidovoj sostav laktobakterij pri razlichnom sostoyanii mikrobioty u beremennykh [Lactobacilli species diversity in different states of vaginal microbiota in pregnant women]. Clinical microbiology and antimicrobial chemical therapy. 2013; 15(1): 72-79.

3.Sashnina L.Yu., Shakhov A.G., Vladimirova Yu.Yu., Nikonenko G.V. Role cytokines in a physiological course of pregnancy[Rol' tsitokinov v obespechenii fiziologicheskogo techeniya beremennosti]. Veterinarnyj farmakologicheskij vestnik. 2022; №3 (20): 144-152. doi: 10.17238/issn2541-8203.2022.3.144.
4.Seythanova B.T., Shapambaev N.C., Olzhayeva R.R., Kalmenova P.E. Mikrobiotsenoz vlagalishha i kishechnika beremennykh zhenshhin [Microbiocenosis vagina and intestine of pregnant women]. Science and healthcare. 2014; 1: 70-71.
5.Skorikov V.N., Nezdanov A.G., Mikhalev V.I. Akusherskaya i ginekologicheskaya patologiya u korov pervotyolok semmental'skoj porody pri raznom vozraste vvoda ikh v proizvodstvo [Obstetric end gynecologic pathology in fresh cows of simmental breed under various ages of beginning reproduction]. Veterinary medicine. 2017; 1: 38-41.
6.Bergey D.H., Krieg N.R., Holt J.G. Bergey's manual of systematic bacteriology. Baltimore, MD : Williams & Wilkins, 1989; 2648 pp.
7.Boris S., Barbés C. Role played by lactobacilli in controlling the population of vaginal pathogens. Microb Infect. 2000; 2: 543–546. doi: 10.1016/S1286-4579(00)00313-0.
8.Deng F., McClure M., Rorie R., Wang X., Chai J., Wei X., Lai S., Zhao J. The vaginal and fecal microbiomes are related to pregnancy status in beef heifers. J Anim Sci Biotechnol. 2019;10: 92. doi: 10.1186/s40104-019-0401-2.
9.Kalinka J., Krajewski P., Sobala W., Wasiela M., Brzezińska-Błaszczyk E. The association between maternal cervicovaginal proinflammatory cytokines concentrations during pregnancy and subsequent early-onset neonatal infection. J Perinat Med. 2006; 34 (5): 371-377. DOI: 10.1515/JPM.2006.075.
10.Laguardia-Nascimento M., Branco K.M., Gasparini M.R., Giannattasio-Ferraz S., Leite L.R., Araujo F.M., Salim A.C., Nicoli J.R., de Oliveira GC, Barbosa-Stancioli E.F. Vaginal Microbiome Characterization of Nellore Cattle Using Metagenomic Analysis. PLoS One. 2015;10 (11): e0143294. doi: 10.1371/journal.pone.0143294.
11.Quinn P.J., Markey B.K., Leonard F.C., FitzPatrick E.S., Fanning S [et al.] Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Wiley-Blackwell, 2011; 912 pp.
12.Verstraelen H., Verhelst R., Claeys G., De Backer E., Temmerman M., Vaneechoutte M. Longitudinal analysis of the vaginal microflora in pregnancy suggests that L crispatus promotes the stability of the normal vaginal microflora and that L gasseri and/or L iners are more conducive to the occurrence of abnormal vaginal microflora. BMC Microbiol. 2009; 9:116. doi: 10.1186/1471-2180-9-116.
13.Zhukov M.S., Alekhin Yu.N. Detection of the upper respiratory tract bacteria in newborn calves. Reproduction in domestic animals. 2022; 57 (S1): 97. DOI: 10.1111/rda.14052

УДК: 577.171.52
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.438

КОНЦЕНТРАЦИЯ АНТИМЮЛЛЕРОВА ГОРМОНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ СЕВЕРНЫХ ОЛЕНЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ

Крутикова А.А.[1 *] – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. молекулярной генетики (ORCID 0000-0003-2561-145X); **Никиткина Е.В.**[1] – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. биологии развития (ORCID 0000-0002-8496-5277); **Ширяев Г.В**.[1] – канд. с.-х. наук, ст. науч. сотр. группы биохимиии (ORCID 0000-0002-4698-3917); **Пегливанян Г.К.**[1] – мл. науч. сотр. лаб. молекулярной генетики (ORCID 0000-0001-5194-4851); **Мусидрай А.А.**[2] – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. отд. жив-ва и рац. природопользования Арктики (0000-0002-0079-9938)**; Никитин Г.С.**[3] – канд. ветеринар. наук, доц. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий.

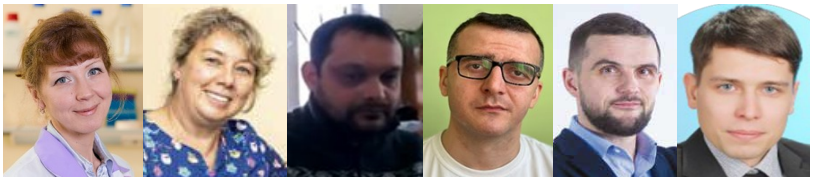
[1] Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных
[2] ФГБУН «Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр РАН»
[3] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
[*]anntim2575@mail.ru

Ключевые слова: *репродуктивная функция, антимюллеров гормон, лютеинизирующий гормон, прогестерон, эстардиол, тестостерон, северные олени (Rangifer tarandus).*

Key words: *reproductive function, anti-Mullerian hormone, luteinizing hormone, progesterone, estradiol, testosterone, reindeer (Rangifer tarandus).*

Финансирование: *Исследования проведены при поддержке Российского Научного Фонда (грант № 22-16-00085).*

Поступила: 10.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Северное оленеводство – ведущая отрасль сельского хозяйства для регионов Крайнего Севера. Северный олень (Rangifer tarandus) остается малоизученным с точки зрения генетики и репродукции, что сдерживает интенсификацию развития отрасли. Активно ведутся исследования в области генетики продуктивных качеств северного оленя, а формирование и функционирование его репродуктивной системы мало изучены. Гормональная регуляция репродуктивного процесса и формирование гормонального статуса на ключевых этапах репродуктивного цикла является значимым аспектом воспроизводства животных. Северный олень характеризуется резко выраженной сезонностью размножения и изучение гормональной регуляции репродуктивного цикла является главным аспектом дальнейшего использования вспомогательных репродуктивных технологий. Работа посвящена анали-

зу уровня антимюллерова гормона у важенок в период размножения. Исследования проводились на северных оленях хозяйства МАУ «Дирекция Территории традиционного природопользования сойотов», Бурятия, (важенки, n=29). Исследована зависимость концентрации антимюллерова гормона (АМГ), являющегося общепризнанным показателем овариального резерва самки, от концентрации половых гормонов (прогестерона, эстрадиола, тестостерона и лютеинизирующего гормона) в сыворотке крови важенок. Уровень гормонов выявляли методом иммуноферментного анализа. Было выявлено более высокое содержание половых гормонов – тестостерона, эстрадиола, прогестерона и лютеинизирующего гормона в группе важенок с концентрацией АМГ >1 нг/мл, чем у важенок с концентрацией АМГ <1 нг/мл. Достоверность различий по прогестерону составила $p<0,05$, а по эстрадиолу – $p<0,001$. Низкая концентрация АМГ (<1 нг/мл), характеризующая пониженный овариальный резерв самок северного оленя, соответствует пониженной концентрации половых гормонов, поддерживающих репродуктивную функцию, и, наоборот, высокой концентрации АМГ (>1 нг/мл), и, соответственно, высокому овариальному резерву соответствует повышенная концентрация половых гормонов, – тестостерона, эстрадиола, прогестерона и лютеинизирующего гормона.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В Арктической зоне России уделяется большое внимание рациональному природопользованию и созданию собственной продовольственной базы [1]. На сегодняшний день, более чем ¾ Евразийской популяции оленей находится в России. Освоение арктических территорий и изменение видового состава пастбищ вследствие глобального потепления приводит к резкому снижению пастбищных угодий. Решением проблемы является совершенствование пород северного оленя с помощью современных методов молекулярной генетики и вспомогательных репродуктивных технологий. Маркерная селекция позволит получить оленей с высокой скоростью набора живой массы и повышенной конверсией корма, а вспомогательные репродуктивные технологии решат проблему тиражирования высокопродуктивных животных. При этом, говоря о домашнем оленеводстве, следует отметить, что значительным препятствием в развитии отрасли является низкий уровень селекции и использования вспомогательных репродуктивных технологий, позволяющих вести разведение животных на более высоком и целенаправленном уровне: криоконсервация яйцеклеток, сперматозоидов и эмбрионов; искусственное осеменение свежей и криоконсервированной спермой, использование сексированной (разделенной по полу) спермы, гормональная суперовуляция, получение эмбрионов вне организма, трансплантация эмбрионов, клонирование и трансгенез. В оленеводстве репродуктивные технологии находятся в зачаточном состоянии, что связано с низкой доместикацией оленей и со сложностью проведения работ в полевых условиях тайги и тундры [2-4]. Все перечисленные направления эффективного воспроизводства нереализуемы без глубоких знаний репродуктивной эндокринологии, которая в отрасли северного оленеводства недостаточно исследована и представлена [5, 6].

При анализе литературы можно встретить публикации, посвященные гормонам, связанных с адаптацией к стрессовому воздействию [7-9]; кальцемическим гормонам [10]; половым стероидам [3, 5, 11-16]; экзогенному использованию гормонов [17-19]. Авторы не нашли публикаций, объектом исследования которых является северный олень, посвященных антимюллерову гормону, определение которого уже давно закрепилось в качестве рутинного метода определения потенциала репродуктивной функции на многих видах животных, включая человека. Антимюллеров гормон является одним из основных индикаторов нормального функционирования половых желёз [20].

По химической структуре антимюллеров гормон (АМГ), другие названия —

антимюллеровская субстанция или антимюллеровый фактор, представляет собой димерный гликопротеин, состоящий из двух идентичных субъединиц, соединенных двумя дисульфидными связями. АМГ, наряду с такими белками как ингибин, активин, костные морфогенетические белки (BMPs), факторы роста и дифференцировки (GDFs) относится к суперсемейству TGFβ. Характерной особенностью членов этого семейства является наличие сайта внутримолекулярного протеолитического расщепления, который в молекуле АМГ находится между 427-м и 428-м аминокислотными остатками. Полагают, что расщепление АМГ в организме происходит под действием таких ферментов как фурин и PC5, принадлежащих к семейству пропротеин-конвертаз. Соединения TGF-β играют роль в нескольких биологических процессах, включая развитие фолликулов, сперматогенез, пролиферацию клеток и апоптоз [21]. АМГ синтезируется исключительно в половых железах. Воздействие АМГ на клетку-мишень осуществляется через связывание с АМГ-рецепторным комплексом, который состоит из АМГ-рецептора II типа и трех различных АМГ-сорецепторов I типа со сложной системой внутриклеточного проведения сигнала [22].

Физиологическая роль АМГ в фолликулогенезе не вполне ясна, но в целом ее можно определить, как ингибирующую: торможение развития примордиальных фолликулов; ингибирование активности ароматазы в клетках гранулезы; снижение чувствительности антральных фолликулов к фолликулостимулирующему гормону (ФСГ), препятствие выбору и росту доминантного фолликула [23].

Уровень АМГ не зависит от секреции гонадотропных гормонов гипофиза и отражает истинное состояние фолликулов. Анализ на антимюллеров гормон считают значимым тестом для определения фолликулярного резерва яичника, оценки овариальной дисфункции и овариального старения. Пониженные значения АМГ свидетельствуют о снижении овариального резерва. Повышение уровня АМГ наблюдают при различных проявлениях нарушений гормонального статуса, в том числе при опухолях яичников.

По данным некоторых авторов АМГ способен снижать чувствительность гранулезных клеток яичников к фолликулостимулирующему гормону, задерживая фолликулы на стадии малых антральных [24]. При этом существует доказанное влияние некоторых стероидных гормонов на синтез и секрецию АМГ [25-27]. Измерив уровень АМГ в крови, можно диагностировать некоторые нарушения в функционировании репродуктивной системы самок.

В настоящее время единого мнения относительно нормативов значения АМГ не существует. Предлагается следующая градация: – меньше 0,3 пг/мл – очень низкий уровень; – от 0,3 до 0,6 – низкий; – 0,7-0,9 – нормальный сниженный; – 1-3 пг/мл – нормальный хороший; – больше 3 пг/мл – высокий, может указывать на наличие поликистозных яичников; – больше 11 пг/мл – очень высокое значение АМГ может указывать на наличие гранулезоклеточной опухоли яичника [28]. Еще одним вариантом является градация <1 и >1 при котором фиксируется снижение функционального резерва яичников [29].

В связи с этим целью наших исследований является изучение концентрации антимюллерова гормона сыворотки крови северных оленей в зависимости от уровня половых гормонов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проведены во Всероссийском научно-исследовательском институте генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиале Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста». Объект изучения — самки северных оленей без клинических признаков заболеваний в количестве 29 голов. Олени принадлежат оленеводческому хозяйству МАУ «Дирекция Территории традиционного

природопользования сойотов» республики Бурятия. Условия содержания и кормления соответствовали зооветеринарным требованиям и были одинаковыми для всех животных. Кровь брали у важенок в сезон размножения (октябрь) из яремной вены после фиксирования. Сыворотка крови получена центрифугированием (3000 об/мин) с последующим замораживанием при -75^{0}С.

При иммуноферментном анализе использовали наборы для определения АМГ и лютеинизирующего гормона (ЛГ) в сыворотке крови Cloud-Clone Corp. (КНР) и выявляли уровни прогестерона, эстрадиола и тестостерона с помощью наборов «Алкор-Био» (Россия). Определение проводили на ИФА-спектрофотометре, FlexA -200 «Allsheng» (КНР).

Определив концентрации АМГ и половых гормонов, общая выборка была разделена на две группы в зависимости от концентрации АМГ: <1 (n=12) и >1 (n=17). Возраст важенок в обоих группах составил 5-7 лет.

Полученные данные обрабатывали с помощью программы IBM SPSS Statistics V26 (США). Средние показатели представлены как среднее арифметическое значение ±SD. Перед статистической обработкой результатов проверяли нормальность распределения показателей по тесту Колмогорова-Смирнова. Все показатели, кроме концентрации лютеинизирующего гормона имели классическое нормальное распределение, в связи с чем были использованы параметрические критерии. Для анализа связи двух признаков использовался анализ ранговой корреляции по Пирсону. Критический уровень значимости различий принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Гормоны представляют собой биологически активные вещества, которые вырабатываются специализированными органами или группой клеток (железами внутренней секреции — гипофизом, надпочечниками, поджелудочной, щитовидной железой, половыми железами и др.). Содержание гормонов в крови незначительно по сравнению с другими компонентами крови, но они оказывают существенное влияние на организм животного. Известно, что состояние функции полового аппарата у животных во многом определяется содержанием и соотношениями специфических половых и других гормонов. Нами проведены исследования по определению концентрации АМГ и половых гормонов в сыворотке крови самок северных оленей. Результаты исследования представлены в таблице 1.

Из данных таблицы 1 видно, что при повышении уровня АМГ практически в случае каждого полового гормона происходило увеличение его концентрации. Особенно заметно это в случае ЛГ и прогестерона. Тестостерон показал также положительную динамику. Концентрация эстрадиола также увеличилась в сравнении 1-ой и 2-ой группы.

В ряде работ на других видах животных исследовалась взаимосвязь АМГ с другими гормональными показателями. Результаты большинства исследований противоречивы [25-27]. В некоторых исследованиях изучалась связь между АМГ и гонадотропинами. Было обнаружено, что после лечения агонистами гонадотропин-рилизинг гормона (ГнРГ) уровни АМГ значительно снижались вместе с увеличением ФСГ и ЛГ, а затем уровни всех гормонов менялись на противоположные, при этом наблюдалась умеренная отрицательная корреляция между АМГ и ФСГ [31]. Однако в других исследованиях показывается, что после введения ГнРГ уровень АМГ значительно изменился, и изменения уровней АМГ не коррелировали с изменениями гонадотропинов, эстрадиола или прогестерона [32]. Более того, было обнаружено, что рецептор AMHR2 экспрессируется в гонадотропных клетках гипофиза, а АМГ напрямую стимулирует секрецию ФСГ и ЛГ [33-35]. В целом взаимосвязь между АМГ и половыми гормонами сложна и противоречива, поэтому для выявления корреляции необходимы дальнейшие исследования.

Результаты корреляционного анализа представлены на рисунках 1 и 2.

Таблица 1 – Содержание АМГ и половых гормонов в сыворотке крови самок северных оленей

Показатель	1 группа АМГ <1 нг/мл, n=14	2 группа АМГ> 1 нг/мл, n=15
АМГ, нг/мл	0,65±0,06 [a]	1,33±0,05 [a]
ЛГ, нг/мл	12,28±1,91	18,17±2,28
Тестостерон, нг/мл	14,26±0,05	15,82±0,08
Эстрадиол, пг/мл	55,04±5,00 [a]	106,71±8,23 [a]
Прогестерон, нмоль/л	4,60±0,82 [b]	9,23±1,92 [b]
Соотношение тестостерон/ эстрадиол	0,30±0,04 [b]	0,17±0,03 [b]

Примечания: [a] p<0,001; [b] p<0,05

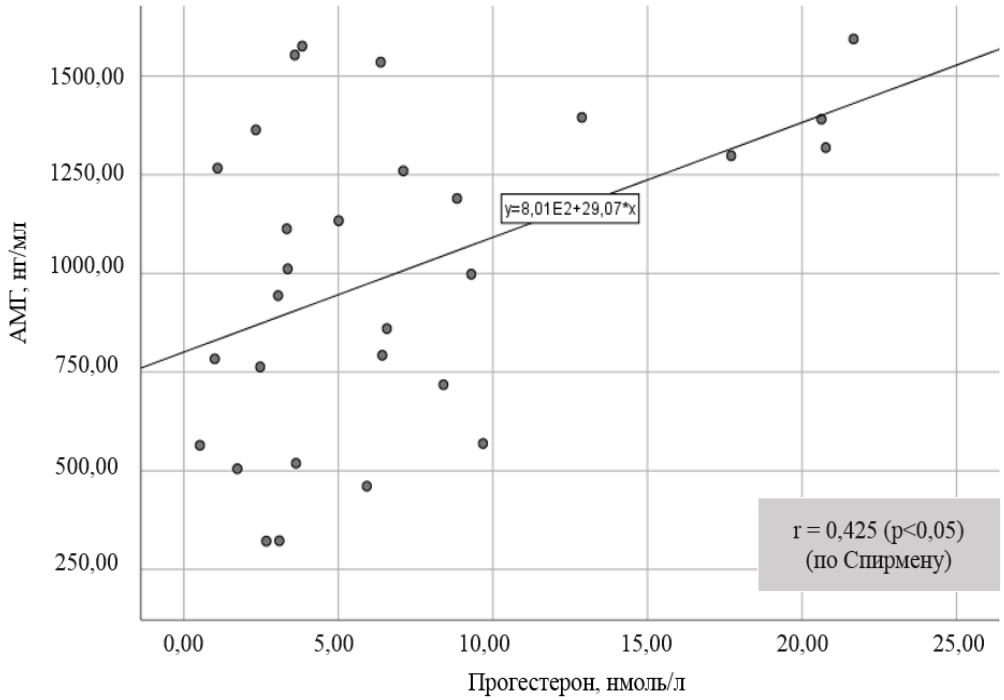


Рисунок 1 – Взаимосвязь уровня АМГ и прогестерона.

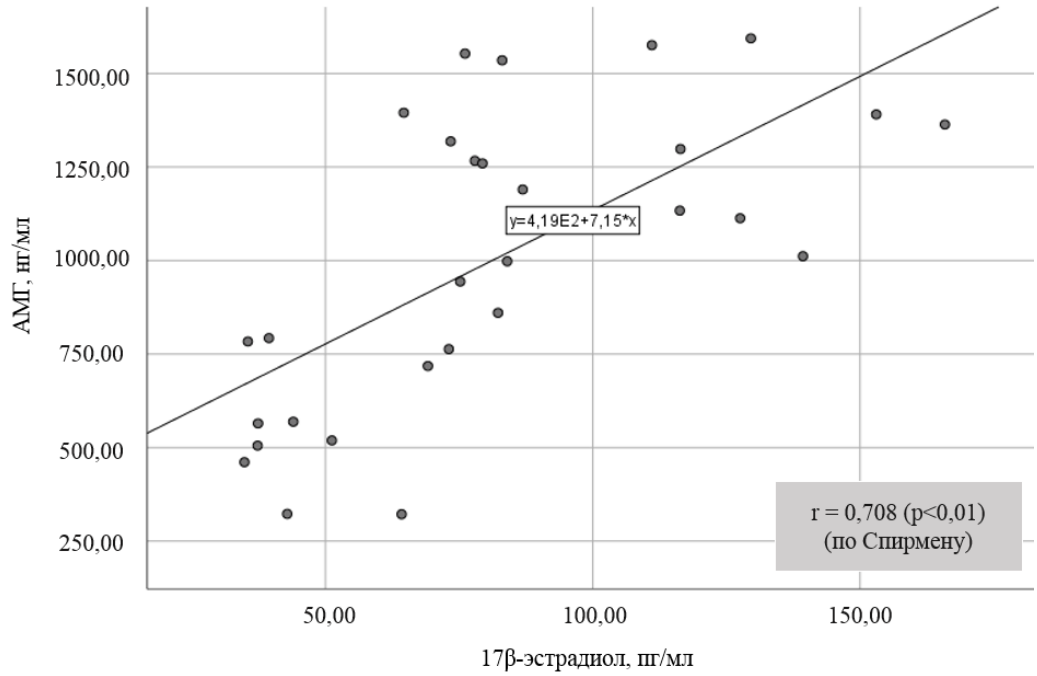


Рисунок 2 – Взаимосвязь уровня АМГ и 17β-эстрадиола.

Положительная корреляция зафиксирована в случае АМГ и прогестерона (r=0,425, p<0,05) и АМГ с 17β-эстрадиолом (r=0,708, p<0,01) (рис. 1, 2). Этот результат частично согласуется с предыдущими исследованиями [36-38]. С одной стороны, АМГ активирует нейрон ГнРГ через рецепторы АМГ и увеличивает ГнРГ-зависимую пульсацию и секрецию ЛГ [35]. В дальнейшем лютеинизирующий гормон стимулирует выработку полового гормона эстрадиола яичниками. С другой стороны, ЛГ может увеличивать выработку АМГ в гранулезных клетках [39]. Таким образом, повышенные уровни АМГ и 17β-эстрадиола взаимно стимулируют друг друга.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Полученные в ходе проведенных исследований результаты показали, что в группе с уровнем АМГ >1 нг/мл концентрация гормонов, регулирующих репродуктивную функцию, – лютеинизирующего гормона, тестостерона, эстрадиола и прогестерона – была выше, по сравнению с группой, где уровень АМГ составлял <1 нг/мл. При этом разница по эстрадиолу и прогестерону была статистически достоверной – p<0,001 и p<0,05, соответственно. Полученные результаты позволяют предположить, что при естественном возрастном снижении овариального резерва у самки (на что указывает пониженная концентрация антимюллерова гормона) в крови снижается концентрация половых гормонов, обеспечивающих поддержание репродуктивной функции организма.

CONCENTRATION OF ANTI-MÜLLERIAN HORMONE IN THE BLOOD SERUM OF REINTER DEER DEPENDING ON THE LEVEL OF SEX HORMONES

Krutikova A.A.[1] * – PhD of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics (ORCID 0000-0003-2561-145X); **Nikitkina E.V.**[1] – PhD of Biological Sciences, Leading Researcher, Laboratory of Developmental Biology (ORCID

0000-0002-8496-5277); **Shiriaev G.V.**[1] – PhD of Agricultural Sciences, Senior Researcher, Biochemistry Group (ORCID 0000 -0002-4698-3917); **Peglivanian G.K.**[1] – Junior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics (ORCID 0000-0001-5194-4851); **Musidray A.A.**[2] – PhD of Biological Sciences, Leading Researcher, Department of Animal Husbandry and Environmental Management of the Arctic (ORCID 0000-0002-0079-9938)**; Nikitin G.S.**[3] – PhD of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Genetic and Reproductive Biotechnologies (ORCID 0000-0002-2080-2970).

[1] Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding;

[2] St. Petersburg Federal Research Center Russian Academy of Sciences,

[3] St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

[*]anntim2575@mail.ru

Funding: *The research was carried out with the support of the Russian Science Foundation (grant No. 22-16-00085).*

ABSTRACT

Reindeer husbandry is the leading branch of agriculture for the regions of the Far North. Reindeer (*Rangifer tarandus*) remains poorly studied from the point of view of genetics and reproduction, which hinders the intensification of development of the industry. Research is being actively conduct in the field of genetics of the productive qualities of reindeer, but the formation and functioning of its reproductive system has been little study. Hormonal regulation of the reproductive process and the formation of hormonal status at key stages of the reproductive cycle is a significant aspect of animal reproduction. Reindeer are characterized by a pronounced seasonality of reproduction, and the study of hormonal regulation of the reproductive cycle is the main aspect of the further use of assisted reproductive technologies. The work is devoted to the analysis of the level of anti-Mullerian hormone in females during the breeding season.

The studies were carried out on reindeer farms of the MAU "Directorate of the Territory of Traditional Natural Resources Management of Soyots", Buryatia, (female, n=29). The dependence of the concentration of anti-Müllerian hormone (AMH), which is a generally accepted indicator of the female ovarian reserve, on the concentration of sex hormones (progesterone, estradiol, testosterone and luteinizing hormone) in the blood serum of females was study. Hormone levels were determined by enzyme immunoassay. A higher content of sex hormones - testosterone, estradiol, progesterone and luteinizing hormone was revealed in the group of women with an AMH concentration of >1 ng/ml than in the group of women with an AMH concentration of <1 ng/ml. The significance of the differences in progesterone was $p<0.05$, and in estradiol – $p<0.001$. A low concentration of AMH (<1 ng/ml), characterizing a reduced ovarian reserve of female reindeer, corresponds to a reduced concentration of sex hormones that support reproductive function, and, conversely, a high concentration of AMH (>1 ng/ml), and, accordingly, a high ovarian reserve the reserve corresponds to an increased concentration of sex hormones - testosterone, estradiol, progesterone and luteinizing hormone.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Лайшев К. А. Проблемы профилактики бруцеллеза северных оленей и пути их решения / К. А. Лайшев, В. А. Забродин, А. В. Прокудин, Н. В. Винокуров, Е. С. Слепцов // Генетика и разведение животных. – 2018. – № 1. – С. 37-45.

2. Lindeberg H. Potential applications of assisted reproductive technologies (ART) in reindeer (Rangifer tarandus) / H. Lindeberg, E. Nikitkina, No. Nagy, A. Musidray, G. Shiryaev, J. Get together, Ø. Holland // Animal Reproduction Science. – 2021. – Vol. 235, doi: 10.1016/j.anireprosci.2021.106890.

3. Никиткина Е. В. Оценка качества спермы северных оленей (rangifer tarandus) с помощью CASA / Е. В. Никиткина, К. В. Племяшов, А. А. Крутикова, С. В. Тимофеева, Г. В. Ширяев, А. А. Мусидрай, В. В. Гончаров, О. К. Сергеева // Ветеринария. – 2018. – № 7. – С. 14-17.

4. Никиткина Е. В. Репродуктивные тех-

нологии в оленеводстве: проблемы и перспективы использования (обзор) / Е. В. Никиткина, В. В. Гончаров, А. А. Крутикова, О. К. Сергеева, А. А. Мусидрай, К. В. Племяшов // Генетика и разведение животных. – 2017. – № 1. – С. 9-14.
5. Trondrud L. M. Stress responses to repeated captures in a wild ungulate / L. M. Trondrud, C. Ugland, E. Ropstad, L. E. Loe, S. Albon, A. Stien, A. L. Evans, P. M. Thorsby, V. Veiberg, R. J. Irvine, G. Pigeon // Sci Rep. – 2022. – № 12(1). – P. 16289. doi: 10.1038/s41598-022-20270-z.
6. Baksi S. N. Plasma calcemic hormones in mature female reindeer, Rangifer tarandus / S. N. Baksi, J. W. Newbrey // Gen Comp Endocrinol. – 1988. – № 69(2). – P. 262-266, doi: 10.1016/0016-6480(88)90014-7.
7. Nikitkina E. Hormone levels in reindeer during estrus stimulation at the beginning of breeding season / E. Nikitkina, V. Goncharov // Reprod. Domest. Anim. – 2015. – № 50. – P. 68-69, doi: 10.1111/rda.12581.
8. Федотов С. В. Определение репродуктивного потенциала у ремонтных телок / С. В. Федотов, Е. Е. Олейникова, С. Г. Яковлев, Е. А. Муха // Генетика и разведение животных. – 2020. – № 4. – С. 43-47, doi: 10.31043/2410-2733-2020-4-43-47.
9. Josso N. Anti-Müllerian hormone and its receptors / N. Josso; N. di Clemente; L. Gouédard // Mol. Cell. Endocrinol. – 2001. – № 179. – P. 25-32.
10. Устинкина Т. И. Антимюллеров гормон в дифференцировке, развитии и функции репродуктивной системы / Т. И. Устинкина, С. Б. Шустов // Проблемы эндокринологии. – 2011. – № 6. – С. 39-44.
11. Pellatt L. Anti-Mullerian hormone and polycystic ovary syndrome: a mountain too high? / L. Pellatt, S. Rise, H. Mason // Reproduction. – 2010. – № 39: 5. – P. 825-833.
12. Grossman M. Miillerian inhibiting substance inhibits cytochrome P450 aromatase activity in human granulosa lutein cell culture / M. Grossman, S. Nakajima, M. Fallat, Y. Siow // Fertility and Sterility. – 2008. – Vol. 89. – P. 1364-1370.
13. Kang An. Potential Role of Anti-Müllerian Hormone in Regulating Seasonal Reproduction in Animals: The Example of Males / Kang An, Baohui Yao, Yuchen Tan, Yukun Kang, Junhu Su / Int. J. Mol. Sci. – 2023. – № 24(6). – 5874, doi: 10.3390/ijms24065874.
14. Белоцерковцева Л. Д. Антимюллеров гормон как фактор, определяющий качество ооцита и исход программ вспомогательных репродуктивных технологий / Л. Д. Белоцерковцева, Л. В. Коваленко, В.В. Данилогорская, Е.В. Бондарева // Вестник СурГУ. Медицина. – 2012. – № 2 (12). – С. 20-23.
15. Скриганюк А. А. Антимюллеров гормон / А. А. Скриганюк, А. Н. Харламова // Universum: медицина и фармакология. – 2019. – № 1 (56). – С. 16-18.
16. Богданова П. С. Антимюллеров гормон (АМГ) у девочек-подростков с гиперандрогенией / П. С. Богданова, М. А. Карева, И. С. Яровая, О. А. Злотникова, А. В. Ильин, И. И. Дедов // Проблемы эндокринологии. – 2012. – № 1. – С. 9-16.
17. Van Helden J. Has GnRH a direct role in AMH regulation / J. Van Helden, O. Evliyaoglu, R. Weiskirchen // Clin Endocrinol. – 2019. – № 90(6). – P. 827-833, doi: 10.1111/cen.13967.
18. Su H. I. The impact of depot GnRH agonist on AMH levels in healthy reproductive-aged women / H. I. Su, K. Maas, P. M. Sluss, R. J. Chang, J. E. Hall, H. Joffe // J Clin Endocrinol Metab. – 2013. – № 98(12). – E1961–E1966, doi: 10.1210/jc.2013-2410.
19. Cimino I. Novel role for anti-Müllerian hormone in the regulation of GnRH neuron excitability and hormone secretion / I. Cimino, F. Casoni, X. Liu, et al. Nat Commun. – 2016. – № 7. – 10055, doi: 10.1038/ncomms10055.
20. Pellatt L. Granulosa cell production of anti-Müllerian hormone is increased in polycystic ovaries / L. Pellatt, L. Hanna, M. Brincat, et al. J Clin Endocrinol Metab. – 2007. – № 92(1). – P. 240-245, doi: 10.1210/jc.2006-1582.

REFERENCES

1. Laishev K.A. Problems of preventing brucellosis in reindeer and ways to solve them / K.A. Laishev, V.A. Zabrodin, A.V. Prokudin, N.V.

Vinokurov, E. S. Sleptsov // Genetics and animal breeding. – 2018. – № 1. – C. 37-45.
2. Lindeberg H. Potential applications of assisted reproductive technologies (ART) in reindeer (Rangifer tarandus) / H. Lindeberg, E. Nikitkina, No. Nagy, A. Musidray, G. Shiryaev, J. Get together, Ø. Holland // Animal Reproduction Science. – 2021. – Vol. 235, doi: 10.1016/ j.anireprosci.2021.106890.
3. Nikitkina E.V. Assessing the quality of reindeer (rangifer tarandus) semen using CASA / E.V. Nikitkina, K.V. Plemiashov, A.A. Krutikova, S.V. Timofeeva, G.V. Shiriaev, A.A. Musidray, V.V. Goncharov, O.K. Sergeeva // Veterinary. – 2018. – № 7. – C. 14-17.
4. Nikitkina E.V. Reproductive technologies in reindeer husbandry: problems and prospects for use (review) / E.V. Nikitkina, V.V. Goncharov, A.A. Krutikova, O.K. Sergeeva, A.A. Musidray, K.V. Plemiashov, // Genetics and animal breeding. – 2017. – № 1. – C. 9-14.
5. Trondrud L. M. Stress responses to repeated captures in a wild ungulate / L. M. Trondrud, C. Ugland, E. Ropstad, L. E. Loe, S. Albon, A. Stien, A. L. Evans, P. M. Thorsby, V. Veiberg, R. J. Irvine, G. Pigeon // Sci Rep. – 2022. – № 12(1). – P. 16289. doi: 10.1038/s41598-022-20270-z.
6. Baksi S. N. Plasma calcemic hormones in mature female reindeer, Rangifer tarandus / S. N. Baksi, J. W. Newbrey // Gen Comp Endocrinol. – 1988. – № 69(2). – P. 262-266, doi: 10.1016/0016-6480(88)90014-7.
7. Nikitkina E. Hormone levels in reindeer during estrus stimulation at the beginning of breeding season / E. Nikitkina, V. Goncharov // Reprod. Domest. Anim. – 2015. – № 50. – P. 68-69, doi: 10.1111/rda.12581.
8. Fedotov S.V. Determination of reproductive potential in replacement heifers / S.V. Fedotov, E.E. Oleinikova, G.S. Jakovlev, E.A. Muha // Genetics and animal breeding. – 2020. – № 4. – C. 43 -47, doi: 10.31043/2410-2733-2020-4-43-47.
9. Josso N. Anti-Müllerian hormone and its receptors / N. Josso; N. di Clemente; L. Gouédard // Mol. Cell. Endocrinol. – 2001. – № 179. – P. 25-32.
10. Ustinkina T.I. Anti-Mullerian hormone in differentiation, development and function of the reproductive system / T.I. Ustinkina, S.B. Shustov // Problems of endocrinology. – 2011. – № 6. – C. 39 -44.
11. Pellatt L. Anti-Mullerian hormone and polycystic ovary syndrome: a mountain too high? / L. Pellatt, S. Rise, H. Mason // Reproduction. – 2010. – № 39: 5. – P. 825-833.
12. Grossman M. Miillerian inhibiting substance inhibits cytochrome P450 aromatase activity in human granulosa lutein cell culture / M. Grossman, S. Nakajima, M. Fallat, Y. Siow // Fertility and Sterility. – 2008. – Vol. 89. – P. 1364-1370.
13. Kang An. Potential Role of Anti-Müllerian Hormone in Regulating Seasonal Reproduction in Animals: The Example of Males / Kang An, Baohui Yao, Yuchen Tan, Yukun Kang, Junhu Su / Int. J. Mol. Sci. – 2023. – № 24(6). – 5874, doi: 10.3390/ijms24065874.
14. Belotserkovtseva L.D. Anti-Mullerian hormone as a factor determining the quality of the oocyte and the outcome of assisted reproductive technology programs / L.D. Belotserkovtseva, L.V. Kovalenko, V.V. Danilogorskaja, E.V. Bondareva // Bulletin of Surgu State University. Medicine. – 2012. – № 2 (12). – C. 20-23.
15. Skriganiuk A.A. Anti-Mullerian hormone / A.A. Skriganiuk, A.N. Harlamova // Universum: medicine and pharmacology. – 2019. – № 1 (56). – C. 16-18.
16. Bogdanova P.S. Anti-Mullerian hormone (AMH) in adolescent girls with hyperandrogenism / P.S. Bogdanova, M.A. Kareva, I.S. Jarovaja, O.A. Zlotnikova, A.V. Ilin, I.I. Dedov // Problems of endocrinology. – 2012. – № 1. – C. 9-16.
17. Van Helden J. Has GnRH a direct role in AMH regulation / J. Van Helden, O. Evliyaoglu, R. Weiskirchen // Clin Endocrinol. – 2019. – № 90 (6). – P. 827-833, doi: 10.1111/cen.13967.
18. Su H. I. The impact of depot GnRH agonist on AMH levels in healthy reproductive-aged women / H. I. Su, K. Maas, P. M. Sluss, R. J. Chang, J. E. Hall, H. Joffe // J Clin Endocrinol Metab. – 2013. – № 98(12). – E1961–E1966, doi: 10.1210/jc.2013-2410.
19. Cimino I. Novel role for anti-Müllerian hormone in the regulation of GnRH neuron excitability and hormone secretion / I. Cimino, F. Casoni, X. Liu, et al. Nat Commun. – 2016. – № 7. – 10055, doi: 10.1038/ncomms10055.
20. Pellatt L. Granulosa cell production of anti-Müllerian hormone is increased in polycystic ovaries / L. Pellatt, L. Hanna, M. Brincat, et al. J Clin Endocrinol Metab. – 2007. – № 92(1). – P. 240-245, doi: 10.1210/jc.2006-1582.

УДК: 577.1:612.664:636.2
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.447

ИЗУЧЕНИЕ АНАБОЛИЧЕСКИХ АСПЕКТОВ ЛАКТАЦИИ У КОРОВ В СВЯЗИ С ИНТЕНСИВНОСТЬЮ КЕТОГЕНЕЗА В НОВОТЕЛЬНЫЙ ПЕРИОД

Васильева С.В.* – канд. ветеринар. наук, доц. каф. биохимии и физиологии (ORCID 0000-0002-7324-6250).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*svvet@mail.ru

Ключевые слова: *коровы, лактация, кетоз, бета-гидроксимасляная кислота, молочная продуктивность, метаболизм.*

Key words: *cows, lactation, ketosis, beta-hydroxybutyric acid, milk production, metabolism.*

Поступила: 25.09.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

В статье рассмотрены результаты исследования молочной продуктивности коров в связи с содержанием бета-гидроксимасляной кислоты в крови в новотельный период. Исследования проводились на высокопродуктивных полновозрастных коровах второй-третьей лактации. Животные были разделены на три группы по содержанию бета-гидроксибутирата – до 1,0 ммоль/л; от 1,0 до 2,0 ммоль/л и свыше 2,0 ммоль/л. Установлено, что увеличение содержания кетонов в крови сопряжено с гипогликемией. У коров с увеличенным содержанием бета-гидроксимасляной кислоты в начале лактации определились более высокие показатели суточных удоев на протяжении пяти месяцев наблюдения. На четвёртый и пятый месяцы лактации удои у этих коров были выше, чем в группах 1 и 2 на 14,6-15,8% и 18,5-20,1%, соответственно. Помимо этого, суммарный выход жира в данной группе больше, чем в первой и второй – на 12,8% и 10,7%, белка – на 9,7% и 11,2% и лактозы – на 8,5% и 13,5%, соответственно. Был предложен расчётный показатель – лактационный индекс анаболизма, который вычисляется с использованием суточного удоя, массовой доли молочного белка и концентрации мочевины. Увеличение данного индекса свидетельствует об активации анаболических реакций, снижение – о всплеске катаболических процессов. Было установлено увеличение лактационного индекса анаболизма у коров третьей группы на 4-5 месяцы лактации с достоверным увеличением на 44,8-45,8% в сравнении с группами 1 и 2. Был выявлен высокий метаболический потенциал к дальнейшей продуктивной лактации у коров, имевших повышенную концентрацию бета-гидроксимасляной кислоты в новотельный период.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

У коров после отёла быстро нарастает молочная продуктивность, уже на второй-третий месяцы лактации суточные удои достигают максимальных значений [1, 2, 3]. Это происходит несмотря на «энергетический провал» в первый месяц лактации, связанный с послеродовой перестройкой организма и отставанием микробиома рубца в способности утилизировать сухое вещество рационов [4, 5, 6, 7]. Поэтому в ранний послеотёльный период у коров часто развивается кетоз на фоне нехватки глюкопластических веществ. Однако у животных кетогенез является дополнительной защитно-приспособительной функцией, обеспечивающей бесперебойное и быстрое обеспечение субстратов для цикла трикарбоновых в условиях дефицита глюкозы [1, 3]. Само по себе увеличение содержания кетоновых тел не является патологическим процессом, а скорее носит адаптивный характер. Однако, чрезмерная их продукция, может свидетельствовать о нарушении метаболизма. В частности, из трёх молекул, относящихся к кетоновым телам, бета-гидроксимасляная кислота является наиболее предпочтительной, так как «перетаскивает» из печени, где она синтезируется, в головной мозг и другие интенсивно работающие органы и ткани 26 молекул АТФ [1, 8]. И это вполне неплохая альтернатива глюкозе, которая необходима молочной железе для выработки лактозы [3, 6].

У лактирующей коровы молочная железа испытывает чрезвычайную метаболическую нагрузку [4, 9, 10]. Обеспечение процесса лактации необходимыми пластическими и энергетическими веществами – одна из приоритетных задач, и с этим напрямую связано понятие лактационной доминанты [1, 2, 11]. Общеизвестно, что в первые 3-4 месяца лактации корова продуцирует максимальное количество молока, однако при этом в начале продуктивного периода происходит снижение массы тела [5, 6, 12]. Этот парадоксальный эффект объясняется влиянием лактационной доминанты, степень проявления которой, по-видимому, зависит от генетического потенциала коровы. Таким образом, в начале лактации в организме в целом увеличивается скорость катаболических процессов, и это в первую очередь, относится к жировому обмену, однако при этом в самой молочной железе проявляется максимальная активность анаболических реакций, в которых образуются белки, липиды и углеводы молочного секрета [4, 6].

Немаловажным является обеспечение животных всеми необходимыми условиями для оптимального усвоения питательных веществ, что влияет не только на метаболический статус, показатели жизнеспособности и адаптационной устойчивости, но и на величину удоев и химический состав молока [13, 14, 15].

В условиях современного молочного скотоводства распространена практика контроля уровня бета-гидроксимасляной кислоты в крови у новотельных коров [2, 4]. Как правило, исследование проводят не менее двух раз – на пятый и пятнадцатый дни после отёла. Портативные приборы, разработанные специально для ветеринарного применения, позволяют в течение нескольких минут получить надёжные результаты измерения бета-гидроксибутирата и глюкозы. В задачу наших исследований вошло изучение анаболических характеристик молочной продуктивности в течение первых пяти месяцев лактации в зависимости от интенсивности кетогенеза в ранний новотельный период.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование было проведено на базе одного из животноводческих хозяйств Ленинградской области. В рамках научной работы нами было сформировано 3 группы коров. Критериями отбора были количество отёлов (2 или 3), продуктивность за предыдущую лактацию (9 – 12 тыс. кг).

Из числа прошедших по данным критериям результатов были отобраны коровы, исследования крови которых на содержание бета-гидроксимасляной кисло-

ты соответствовали требованиям, изложенным в таблице 1.

В каждую группу вошло по 10 голов. Ежемесячно у коров проводились контрольные дойки, в ходе которых учитывались суточные удои. Пробы молока отправляли в лабораторию для физико-химического анализа.

Таблица 1 – Критерии формирования групп

Группы коров	Содержание бета-гидроксимасляной кислоты в крови, ммоль/л	
	На 5 день	На 15 день
1 группа	Менее 1,0	Менее 1,0
2 группа	От 1,0 до 2,0	От 1,0 до 2,0
3 группа	Свыше 2,0	Свыше 2,0

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты исследования представлены в таблицах 2-6 и на рис. 1-3.

В таблице 2 представлены данные по содержанию β-гидроксибутирата и глюкозы у коров, которые демонстрируют наличие гипогликемии у коров второй и третьей групп. Особенно отчётливо прослеживается разница в концентрации глюкозы у этих групп в сравнении с первой на пятый день лактации на 26,6% и 26,3%, соответственно (P<0,01). Необходимо отметить, что в данном хозяйстве проводят лечение коров с клиническими признаками кетоза и при наличии завышенных результатов исследования β-гидроксибутирата в крови. Больным животным проводят дополнительную выпойку энергетической смеси, содержащей пропионовую кислоту и/или её соли, вводят 10% раствор глюкозы внутривенно (1-1,5л), при необходимости назначают инъекции витаминов B6, B12. Длительность лечения и кратность введения препаратов определяется индивидуально исходя из клинического состояния животного.

Результаты исследования молочной продуктивности (табл. 3, рис. 1) показывают, что у коров всех исследуемых групп максимальный удой определяется на третий месяц лактации, но в первой и второй группе после наступления лактационного пика происходит довольно резкое снижение удоев на 22,4% (P<0 ,05) и 15,8%, соответственно. Тогда как у коров третьей группы в этот же период снижение объёма молочной продуктивности составляет только 6,4%. Также примечательно то, что у коров группы 3 на четвёртый и пятый месяцы лактации удои выше, чем в группах 1 и 2 на 14,6-15,8% и 18,5-20,1%, соответственно.

Таблица 2 – Результаты исследования глюкозы и β-гидроксибутирата у коров на 5-й и 15-й дни после отёла

Исследуемые группы	Концентрация β-гидроксибутирата, ммоль/л		Концентрация глюкозы, ммоль/л	
	5 день	15 день	5 день	15 день
1 группа	0,64±0,05	0,66±0,05	2,78±0,15	2,62±0,20
2 группа	1,64±0,05	1,59±0,03	2,04±0,18**	2,19±0,19
3 группа	3,05±0,15	2,56±0,11	2,05±0,15**	1,79±0,24*

*Примечание: * - P<0,05; ** - P< 0,01 при сравнении с группой 1*

Таблица 3 – Динамика среднесуточных удоев, л

Месяцы лактации	1 группа	2 группа	3 группа
1	39,70±2,90	40,50±2,46	41,50±2,60
2	42,20±2,10	42,20±2,35	44,50±1,82
3	45,40±2,28	42,50±2,39	45,20±2,35
4	37,10±1,78	36,70±2,69	42,50±1,79
5	37,30±3,09	36,80±2,72	44,20±2,53

*Примечание: * - P<0,05 при сравнении с группой 2*

Таблица 4 – Динамика изменения химического состава молока

Месяцы лактации	Показатели	1 группа	2 группа	3 группа
1 месяц	Жир, %	4,29±0,30	4,62±0,39	4,55±0,32
	Белок, %	3,19±0,09	2,98±0,05	3,21±0,10
	Лактоза, %	5,13±0,06	5,19±0,05	5,06±0,06
	Мочевина, мг/дл	27,42±2,34	30,17±2,76	32,77±2,18
2 месяц	Жир, %	3,94±0,17	4,16±0,16	4,27±0,20
	Белок, %	3,13±0,04	3,24±0,08	3,14±0,09
	Лактоза, %	5,28 ±0,08	5,02±0,10	5,08±0,07
	Мочевина, мг/дл	28,03±1,63	31,87±2,68	35,01±1,45**
3 месяц	Жир, %	3,74±0,12	3,79±0,18	3,85±0,20
	Белок, %	3,29±0,05	3,23±0,10	3,23±0,10
	Лактоза, %	5,12±0,05	5,05±0,09	5,14±0,04
	Мочевина, мг/дл	32,73±2,09	32,01±1,86	34,35±2,78
4 месяц	Жир, %	3,82±0,19	3,85±0,22	3,69±0,17
	Белок, %	3,30±0,11	3,30±0,06	3,41±0,16
	Лактоза, %	5,03±0,06	5,08±0,07	5,30±0,17
	Мочевина, мг/дл	32,91±3,66	26,56±1,62	29,69±2,04
5 месяц	Жир, %	3,52±0,14	4,02±0,27	3,86±0,20
	Белок, %	3,22±0,07	3,32±0,10	3,17±0,08
	Лактоза, %	5,16±0,05	5,08±0,07	5,07±0,05
	Мочевина, мг/дл	29,29±1,69	30,12±1,89	24,43±1,65

*Примечание: * - P<0,05 при сравнении с группой 1*

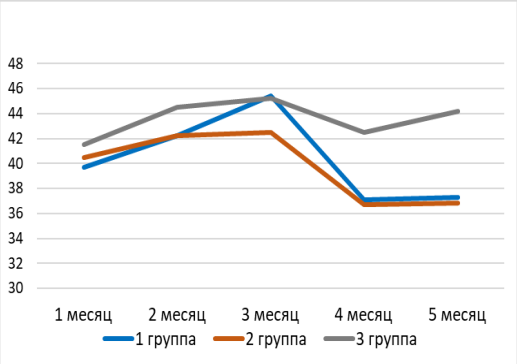


Рисунок 1 – Динамика среднесуточных удоев по месяцам лактации

При рассмотрении динамики биохимических показателей молока (табл. 4) можно отметить следующее: уровень молочного жира наиболее высок в первый месяц лактации, затем во всех группах отмечается его постепенное снижение. Так, его содержание составляет со второго по пятый месяцы в первой группе 3,52-3,94%, во второй – 3,79-4,16% и в третей – 3,69-4,27%. Пределы колебаний массовой доли белка и лактозы во всех группах более узкие. Так в группах 1, 2 и 3 различия между минимальным и максимальным значениями по белку составляют 5,43%, 11,41% и 8,60%, а по лактозе – 4,97%, 3,39% и 4,74%, соответственно.

В отношении уровня мочевины прослеживаются более выраженные колебания, причём как при внутригрупповом, так и при межгрупповом сравнении. Нельзя не обратить внимание на более высокие показатели у коров третьей группы с первого по третий месяцы и затем последующее их снижение. Однако именно содержание мочевины может меняться при смещении обмена веществ в сторону анаболизма или катаболизма, прежде всего это касается белкового обмена. Кроме того, данный показатель отражает обеспеченность организма протеином. В связи со сложностью интерпретации концентрации мочевины, как отдельно взятого параметра, нами был проведён расчёт коэффициента, в который заложены молочная продуктивность, концентрация белка и мочевины. Коэффициент рассчитывается, как дробь, в числителе которой произведение суточного удоя и массовой доли молочного белка, а в знаменателе – концентрация мочевины в молоке. Смысл данного коэффициента заключается в том, что при увеличении синтетических процессов (секреция молока, синтез белка) его значение возрастает, а при усилении реакций катаболизма (распад белка), наоборот, снижается, так как в этом случае будет возрастать продукция мочевины. Для удобства нами предложено использовать безмерные модульные значения данных параметров, а значение коэффициента измерять в условных единицах. Формула расчёта:

$$А = \frac{У \times Б}{М}\ \text{Усл. ед.},$$

где: А – расчётный коэффициент,

У – суточный удой (л),

Б – массовая доля белка в молоке (%),

М – концентрация мочевины в молоке (мг/дл).

Данный коэффициент можно обозначить, как лактационный индекс анаболизма. В таблице 5 и на рис. 2 представлена динамика данного индекса по месяцам лактации.

При рассмотрении лактационного индекса анаболизма в динамике можно отметить, что у коров первой группы данный показатель в первые три месяца лактации имеет наивысшие значения, затем наблюдается его снижение. Во второй группе график имеет сглаженную куполообразную траекторию со смещением вправо. Таким образом, к пятому месяцу лактации у коров первой и второй групп

наблюдается некоторое истощение ресурсов для обеспечения оптимальной молочной секреции, что подтверждается и снижением у них удоев в этот же период. Напротив, у коров третьей группы после некоторого повала показателя в первые три месяца, затем наблюдается устойчивый рост данного индекса. Причём на пятый месяц лактации обнаруживается достоверное увеличение показателя на 44,8% и 45,8% в сравнении с группами 1 и 2 (P<0,05).

Для оценки суммарного (валового) количества жира, белка и лактозы нами было подсчитано общее количество данных питательных веществ за период со второго по пятый месяцы лактации (таблица 6, рис. 3). Данные по первому месяцу не корректно брать в расчёт, так как невозможно объективно подсчитать среднемесячную концентрацию данных веществ ввиду динамичного изменения состава молочного (молозивного) секрета за данный период.

Таблица 5 – Динамика лактационного индекса анаболизма

Месяцы лактации	1 группа	2 группа	3 группа
1	4,89±0,50	4,25±0,38	4,27±0,46
2	4,82±0,31	4,47±0,31	4,09±0,33
3	4,82±0,54	4,50±0,55	4,49±0,47
4	4,33±0,73	4,62±0,28	5,12±0,51
5	4,20±0,43	4,17±0,40	6,08±0,67*

*Примечание: * - P<0,05 при сравнении с группой 1*

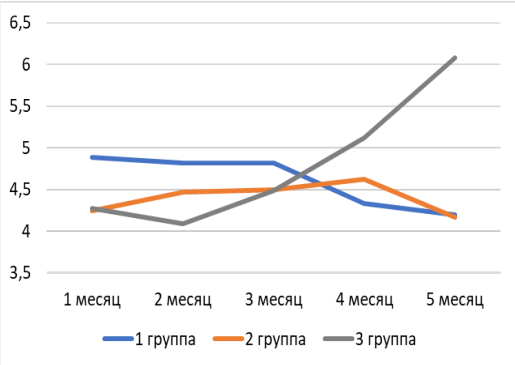


Рисунок 2 – Динамика лактационного индекса анаболизма

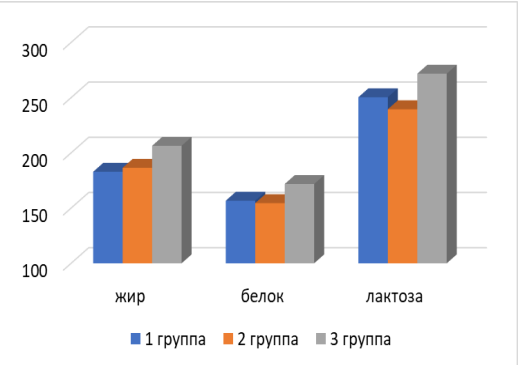


Рисунок 3 – Валовый выход жира, белка и лактозы с молоком

Таблица 6 – Сравнение валового выхода жира, белка и лактозы с молоком за 2-5 месяцы лактации

Показатели	1 группа	2 группа	3 группа
Жир, кг	182,92±7,76	186,47±8,41	206,41±7,34*
Белок, кг	156,67±5,64	154,48±6,34	171,81±6,97
Лактоза, кг	250,38±10,22	239,45±8,43	271,72±7,81^

*Примечание: * - P<0,05 при сравнении с группой 1, ^ - P<0,05 при сравнении с группой 2*

Данные, представленные в таблице 5 и на рис. 3 свидетельствуют о преобладании выработки всех важнейших питательных веществ молока – жиров, белков и углеводов в третьей группе. Так, суммарный выход жира в данной группе больше, чем в первой и второй – на 12,8% и 10,7%, белка – на 9,7% и 11,2% и лактозы – на 8,5% и 13,5%, соответственно.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате проведения данной работы получены интересные результаты: у коров, имевших в новотельный период наивысшие результаты бета-гидроксимасляной кислоты и наименьшие показатели глюкозы, в конечном счёте оказывается самая высокая молочная продуктивность и максимальные показатели выхода с молоком жира, белка и лактозы. Как свидетельствуют показатели удоев, химический состав молока, а также предложенный нами лактационный индекс анаболизма, коровы этой группы претерпевают огромную метаболическую нагрузку в первые три месяца после отёла, и лишь с четвёртого месяца наступает адаптация организма и усиление анаболических процессов. У коров, не перенёсших кетоз после отёла, или имевших показатели бета-гидроксибутирата, соответствующие субклиническому кетозу, продукция молока была довольно высокой в первые три месяца, а затем снижалась. Данный феномен может быть объяснён высокой адаптационной способностью коров для реализации лактационной доминанты. После отёла обмен веществ интенсивно удовлетворяет потребности молочной железы, обеспечивая всеми необходимыми пластическими и энергетическими материалами. Напомним, что для синтеза лактозы, массовая доля которой превышает таковую для жира и белка, необходим глюкоза. А как показали наши исследования – концентрация молочного сахара – весьма постоянная величина, мало зависящая от удоя, стадии лактации и других параметров.

Таким образом, для обеспечения бесперебойной работы всех органов и систем продукция бета-гидроксибутирата становится жизненно необходимой. Ведь при снижении глюкозы именно бета-гидроксимасляная кислота выполняет роль альтернативного источника энергии для мозга, так как легко проникает через гематоэнцефалический барьер. Также данный метаболит активно используется миокардом, скелетными мышцами, почками. Необходимо отметить, что кетогенез позволяет сберечь белки, в том числе мышечные и не расходовать их в большом количестве на глюконеогенез. Сегодня набирают популярность воззрения о бета-гидроксибутирате, как о сигнальной молекуле, стимулирующей эпигенетические изменения во всём организме, вызывая противовоспалительный эффект, повышение чувствительности клеток к инсулину, а также многие другие эффекты, которые в настоящее время активно изучаются. Учитывая тот факт, что коровы с повышенным уровнем бета-гидроксимасляной кислоты после отёла, в конечном счёте показали более высокую эффективность по молочной продуктивности, хотя и преодолев при этом период повышенного катаболизма, то встаёт вопрос о необходимости выявления таких коров в стаде и индивидуальной работе с ними. Необходим поиск средств и методов воздействия на организм таких коров с целью оказать оптимальную помощь в период раздоя для максимальной реализации их генетического потенциала.

STUDYING ANABOLIC ASPECTS OF LACTATION IN COWS IN CONNECTION WITH THE INTENSITY OF KETOGENESIS DURING THE NEW CALVED PERIOD

Vasileva S.V. * – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Biochemistry and Physiology (ORCID 0000-0002-7324-6250).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*svvet@mail.ru

ABSTRACT

The article discusses the results of a study of the milk productivity of cows in connection with the content of beta-

hydroxybutyric acid in the blood during the new calving period. The studies were carried out on highly productive full-aged cows of the second and third lactation. The animals were divided into three groups according to the content of beta-hydroxybutyrate - up to 1.0 mmol/l; from 1.0 to 2.0 mmol/l and over 2.0 mmol/l. It has been established that an increase in the content of ketones in the blood is associated with hypoglycemia. Cows with increased levels of beta-hydroxybutyric acid at the beginning of lactation showed higher daily milk yields over a five-month period of observation. In the fourth and fifth months of lactation, the milk yield of these cows was higher than in groups 1 and 2 by 14.6-15.8% and 18.5-20.1%, respectively.

In addition, the total yield of fat in this group is greater than in the first and second - by 12.8% and 10.7%, protein - by 9.7% and 11.2%, and lactose - by 8.5% and 13.5%, respectively. A calculation indicator was proposed - the lactation anabolism index, which is calculated using daily milk yield, mass fraction of milk protein and urea concentration. An increase in this index indicates the activation of anabolic reactions, a decrease indicates a surge in catabolic processes. An increase in the lactation anabolism index was found in cows of the third group at 4-5 months of lactation with a significant increase of 44.8-45.8% in comparison with groups 1 and 2. A high metabolic potential for further productive lactation was established in cows that had increased concentration of beta-hydroxybutyric acid in the new calving period.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Конопатов, Ю. В. Биохимия животных / Ю. В. Конопатов, С. В. Васильева. – 1-е, Новое. – Санкт-Петербург: Издательство Лань, 2015. – 176 с. – ISBN 978-5-8114-1823-7. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25180633

2.Никитина, А. А. Распространенность и диагностика субклинического кетоза у молочных коров в транзитный период / А. А. Никитина // Материалы 75-й юбилейной международной научной конференции молодых ученых и студентов СПбГУВМ, посвященной, объявленному в 2021 году президентом РФ Путиным В.В., году науки и технологий, Санкт-Петербург, 05–09 апреля 2021 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2021. – С. 159-161. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=45611037

3.Никитина, А. А. Некоторые показатели метаболизма коров в разные периоды стельности и их влияние на клинический статус / А. А. Никитина // Ветеринария. – 2023. – № 10. – С. 41-44. – DOI 10.30896/0042-4846.2023.26.10.41-45. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54651233

4.Показатели крови у больных кетозом коров / С. П. Ковалев, П. С. Киселенко, В. А. Трушкин, А. А. Никитина // Актуальные проблемы инновационного развития животноводства : Международная научно-практическая конференция, Брянск, 30–31 мая 2019 года. – Брянск: Брянский государственный аграрный университет, 2019. – С. 86-89. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=38576828

5.Study of metabolic processes in cows with hyperbilirubinemia in the postpartum period / A. Nikitina, S. Vasileva, R. Vasilev [et al.] // FASEB Journal. – 2022. – Vol. 36, No. S1. – P. 3431. – DOI 10.1096/fasebj.2022.36.S1.R3431. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48561184

6.Vasilieva, S. V. Influence of subclinical ketosis in cows on formation of colostral immunity in calves / S. V. Vasilieva, R. M. Vasiliev // Medical Immunology (Russia). – 2021. – Vol. 23, No. 4. – P. 981-986. – DOI 10.15789/1563-0625-IOS-2274. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46687169

7.Изменение показателей пигментного обмена при лечении коров, больных хроническим гепатозом / А. А. Воинова, С. П. Ковалев, В. А. Трушкин, Г. С. Никитин // Международный вестник ветеринарии. – 2018. – № 1. – С. 114-118. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?

id=32703715
8.Влияние гепатопротектора "Гепалан" на клинико-морфологические показатели крови у коров-первотелок при гепатозе / М. С. Голодяева, А. В. Прусаков, А. В. Яшин, В. Д. Раднатаров // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова. – 2021. – № 2(63). – С. 136-140. – DOI 10.34655/bgsha.2021.63.2.019. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46244259 Клиническое исследование животного с оформлением истории болезни / С. П. Ковалев, И. А. Никулин, В. А. Трушкин [и др.]. – Санкт-Петербург : Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2021. – 128 с. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46441108
9.Голодяева, М. С. Влияние гепатопротектора "Гепалан" на структурную организацию тканей печени коров-первотелок / М. С. Голодяева, А. В. Прусаков, А. В. Яшин // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2021. – № 2. – С. 114-117. – DOI 10.17238/issn2072-6023.2021.2.114. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46196552
10.Study of metabolic processes in cows with hyperbilirubinemia in the postpartum period / A. Nikitina, S. Vasileva, R. Vasilev [et al.] // FASEB Journal. – 2022. – Vol. 36, No. S1. – P. 3431. – DOI 10.1096/fasebj.2022.36.S1.R3431. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48561184
11.Baryshev, V. A. New methods for detoxification of heavy metals and mycotoxins in dairy cows / V. A. Baryshev, O. S. Popova, V. S. Ponamarev // Online Journal of Animal and Feed Research. – 2022. – Vol. 12, No. 2. – P. 81-88. – DOI 10.51227/ojafr.2022.11. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48113521
12.Фармакокоррекции гепатопатий различной этиологии у крупного рогатого скота : методические рекомендации / Н. Л. Андреева, А. М. Лунегов, А. В. Яшин [и др.]. – Санкт-Петербург : Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2020. – 19 с. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44706307
13.The state of the antioxidant system in cows at different densities of radioactive contamination of the soil / P. S. Anipchenko, R. M. Vasilev, V. N. Gaponova [et al.] // FASEB Journal. – 2020. – Vol. 34, No. S1. – P. 05122. – DOI 10.1096/fasebj.2020.34.s1.05122. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=42887126
14.Морфологический состав крови у коров Абердин-Ангусской породы в условиях Ленинградской области / А. А. Воинова, С. П. Ковалев, Г. С. Никитин [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2017. – № 4. – С. 142-144. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=30793493

REFERENCES

1.Konopatov, Yu. V. Biochemistry of animals / Yu. V. Konopatov, S. V. Vasilyeva. – 1st, New. – St. Petersburg: Lan Publishing House, 2015. – 176 p. – ISBN 978-5-8114-1823-7. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25180633
2.Nikitina, A. A. Prevalence and diagnosis of subclinical ketosis in dairy cows during the transit period / A. A. Nikitina // Proceedings of the 75th anniversary international scientific conference of young scientists and students of St. Petersburg State University of Medicine, dedicated to the announced in 2021 by the President of the Russian Federation V.V. Putin, the year of science and technology, St. Petersburg, April 05–09, 2021. – St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2021. – P. 159-161. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=45611037
3.Nikitina, A. A. Some indicators of the metabolism of cows during different periods of pregnancy and their impact on the clinical status / A. A. Nikitina // Veterinary Medicine. – 2023. – No. 10. – P. 41-44. – DOI 10.30896/0042-4846.2023.26.10.41-45. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54651233
4.Blood parameters in cows with ketosis / S.

P. Kovalev, P. S. Kiselenko, V. A. Trushkin, A. A. Nikitina // Current problems of innovative development of animal husbandry: International scientific and practical conference, Bryansk, May 30–31, 2019. – Bryansk: Bryansk State Agrarian University, 2019. – P. 86-89. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=38576828

5.Study of metabolic processes in cows with hyperbilirubinemia in the postpartum period / A. Nikitina, S. Vasileva, R. Vasilev [et al.] // FASEB Journal. – 2022. – Vol. 36, No. S1. – P. 3431. – DOI 10.1096/fasebj.2022.36.S1.R3431. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48561184

6.Vasilieva, S. V. Influence of subclinical ketosis in cows on formation of colostral immunity in calves / S. V. Vasilieva, R. M. Vasiliev // Medical Immunology (Russia). – 2021. – Vol. 23. – No 4. – P. 981-986. – DOI 10.15789/1563-0625-IOS-2274. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46687169

7.Changes in indicators of pigment metabolism in the treatment of cows with chronic hepatosis / A. A. Voinova, S. P. Kovalev, V. A. Trushkin, G. S. Nikitin // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2018. – No. 1. – P. 114-118. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=32703715

8.The influence of the hepatoprotector "Hepalan" on clinical and morphological blood parameters in first-calf cows with hepatosis / M. S. Golodiaeva, A. V. Prusakov, A. V. Yashin, V. D. Radnatarov // Bulletin of the Buryat State University - Gift Agricultural Academy named after. V.R. Filippova. – 2021. – No. 2(63). – pp. 136-140. – DOI 10.34655/bgsha.2021.63.2.019. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46244259

9.Clinical study of an animal with a history of the disease / S. P. Kovalev, I. A. Nikulin, V. A. Trushkin [etc.]. – St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2021. – 128 p. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46441108

10.Golodiaeva, M. S. Influence of the hepato-protector "Hepalan" on the structural organization of liver tissue of first-calf cows / M. S. Golodiaeva, A. V. Prusakov, A. V. Yashin // Issues of legal regulation - research in veterinary medicine. – 2021. – No. 2. – P. 114-117. – DOI 10.17238/issn2072-6023.2021.2.114. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46196552

11.Study of metabolic processes in cows with hyperbilirubinemia in the postpartum period / A. Nikitina, S. Vasileva, R. Vasilev [et al.] // FASEB Journal. – 2022. – Vol. 36, No. S1. – P. 3431. – DOI 10.1096/fasebj.2022.36.S1.R3431. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48561184

12.Baryshev, V. A. New methods for detoxification of heavy metals and mycotoxins in dairy cows / V. A. Baryshev, O. S. Popova, V. S. Ponamarev // Online Journal of Animal and Feed Research. – 2022. – Vol. 12, No. 2. – P. 81-88. – DOI 10.51227/ojafr.2022.11. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48113521

13.Pharmacocorrection of hepatopathy of various etiologies in cattle: methodological recommendations / N. L. Andreeva, A. M. Lunegov, A. V. Yashin [etc.]. – St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2020. – 19 p. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44706307

14.The state of the antioxidant system in cows at different densities of radioactive contamination of the soil / P. S. Anipchenko, R. M. Vasilev, V. N. Gaponova [et al.] // FASEB Journal. – 2020. – Vol. 34, No. S1. – P. 05122. – DOI 10.1096/fasebj.2020.34.s1.05122. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=42887126

15.Morphological composition of blood in cows of the Aberdeen-Angus breed in the conditions of the Leningrad region / A. A. Voinova, S. P. Kovalev, G. S. Nikitin [etc.] // Issues of legal regulation in veterinary medicine. – 2017. – No. 4. – P. 142-144. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=30793493

ХИРУРГИЯ

УДК: 616.126.56-007.271:616.12-007-053.1:636.7
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.457

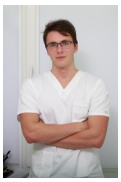
СОЧЕТАНИЯ СТЕНОЗА КЛАПАНА ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ С ДРУГИМИ ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА У СОБАК

Трунов А.А. – асп. кафедры общей, частной и оперативной хирургии (ORCID 0000-0002-6435-0363).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
*gustavo1frink@gmail.com

Ключевые слова: *стеноз клапана легочной артерии, дисплазия, дефект межпредсердной перегородки, тетрада Фалло.*
Key words: *pulmonary stenosis, dysplasia, atrial septal defect, tetralogy of Fallot.*

Поступила: 29.09.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ.
В работе представлены статистические результаты выявления комбинаций различных врожденных пороков сердца у собак разных пород, у которых был диагностирован стеноз клапана легочной артерии. Исследование проводили на базе кафедры общей, частной и оперативной хирургии ФГБОУ ВО СПБГУВМ, а также в ветеринарной клинике неврологии, травматологии и интенсивной терапии. Общая выборка составила 100 животных. Исследование выполняли перед выполнением оперативного лечения стеноза клапана легочной артерии методом баллонной пластики клапана легочной артерии. Всем животным проводили полное физикальное обследование. Оценивали морфофункциональное состояние сердца. Диагноз ставили с помощью эхокардиографии с использованием доплера. Выявляли и исследовали каждый врожденный порок сердца отдельно, отмечая его индивидуальные особенности и изменения гемодинамики при сочетании нескольких врожденных аномалий развития сердца. В данном исследовании фигурируют животных, у которых помимо обструктивных заболевание выносящего тракта правого желудочка находили другие аномалии развития сердца. Среди 100 обследованных собак самым частым комбинированным пороком сердца являлась тетрада Фалло. Данную патологию выделяли отдельно, так как ее механизм развития существенно отличается, от простой комбинации нескольких аномалий развития сердца. Считается, что это один порок сердца, состоящий из нескольких компонентов. Помимо нее в сочетании со стенозом клапана легочной артерии встречались дефект межпредсердной перегородки, дисплазия митрального или трикуспидального клапанов, открытый артериальный проток, стеноз клапана аорты. Чаще всего в данном исследовании комбинированные пороки сердца встречали у собак породы французский бульдог, так как это самая распространенная порода собак, у которой диагностируется стеноз клапана легочной артерии в нашем регионе.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Врожденные пороки сердца – аномальное строение камер сердца, крупных сосудов или клапанов (нередки и сочетания) вследствие генетической предрасположенности, нарушений внутриутробного развития или по другим причинам. У собак данная группа патологий встречается редко (0,13% от популяции) [2,6]. Основным методом диагностирования пороков сердца у собак является эхокардиография с доплерографией [3]. В основном, во время исследования диагностируется изолированно 1 порок сердца. Однако в отдельных случаях может присутствовать несколько аномалий развития камер, перегородок или клапанов одновременно. Наличие двух и более дефектов развития сердца могут как усугублять друг друга, так и компенсировать. Один из наиболее часто встречаемых внутрисердечных дефектов развития сердца — стеноз клапана легочной артерии (20-30%) [5,6]. У ряда зарубежных авторов есть публикации, в которых описана распространенность как изолированного стеноза клапана легочной артерии, так и в комбинации с различными другими врожденными аномалиями развития сердца, однако результаты у каждого автора сильно отличаются друг от друга. [4,5,6] Нет ни одной публикации на территории Российской Федерации, в который бы описывалась комбинация стеноза клапана легочной артерии с другими врожденными пороками сердца. Также нет данных, указывающие, какие аномалии сердца наиболее часто встречаются вместе с обструктивными патологиями выносящего тракта правого желудочка. Цель данной работы выявить, на сколько часто у собак со стенозом клапана легочной артерии встречаются и других врожденные пороки сердца.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Определить общее количество собак различных пород со стенозом клапана легочной артерии
2. Выявить все возможные дополнительные пороки сердца у собак со стенозом клапана легочной артерии
3. Определить самые распространенные комбинации пороков у собак со стенозом клапана легочной артерии

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводили на базе одной из крупных клиник Санкт-Петербурга и в СПБГУВМ на кафедре акушерства и оперативной хирургии. Всего за 5 лет отобрали 100 собак различных пород со стенозом клапана легочной артерии.

Всем животным проводили полное физикальное обследование, аускультация сердца и эхокардиография с доплерографией. Собирали полный анамнез с акцентом на основные клинически проявления болезни. Основные жалобы, при их наличии — это одышка, непереносимость нагрузок, асцит, кашель, обмороки. Шумы сердца во время аускультации классифицировали как систолический, диастолический или систолодиастолический, а также определяли выраженность по системе от 1 до 6, где 1 - еле различимый с помощью фонендоскопа, а 6 - слышно в тихой комнате без дополнительных устройств.

Исследование сердца с помощью эхокардиографии проводили на аппарате Philips Affinity 50 и использовали фазированные датчики s8-3 и s12-4. Во время проведения УЗИ сердца оценивали геометрию сердца и внутрисердечную гемодинамику. Для исследования использовали правые парастернальные и левые апикальные проекции. Локализацию дефектов производили с помощью цветового доплеровского картирования. При наличии шунтирования крови между камерами определяли направление сброса, его скорость и размер самого дефекта. Обструкции также описывали: локализация, эффективный диаметр, максимальная скорость прохождения крови через стенозированное отверстие. Низкоскоростные потоки документировались с помощью импульсно-волнового доплера, а высокоскоростные — постоянно-волновым доплером. Все дефекты развития описывали отдельно.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Всего за 5 лет уточняющее предоперационное исследование провели у 100 собак разных пород. Была выделена 31 порода собак, включая беспородных собак. Данные о распространенности стеноза клапана легочной артерии среди собак различных пород представлены в таблице 1. 63 собаки - самцы, а 37 - самки. Возраст у наблюдаемых собак варьировался от 1 месяца до 11 лет 3 месяцев, средний возраст составлял 1 год 8 месяцев.

У 23 животных помимо стеноза клапана легочной артерии диагностировали другой врожденный порок сердца, что составляет 23 % от общей выборки. В таблице 2 указана распространенность каждого из врожденных сердечных аномалий, их породная предрасположенность.

Всего выявили 13 пород, у которых диагностировано более 1 порока. Так как выборка животных небольшая, невозможно однозначно утверждать, какие породы предрасположены к комбинациям врожденных аномалий развития сердца. Чаще всего несколько пороков встречали у пинчеров и американских Булли.

Кроме того, наиболее часто диагностировали во время исследования комбинированный порок - тетрада Фалло (10 % от общего количества животных) (рисунок 1). Его следует выделять в отдельную группу, так как развитие каждого из элементов этого комбинированного порока зависит друг от друга, в отличие от других комбинированных пороков, где каждый элемент развивается независимо. За исключением одного животного (мальтийская болонка) тетраду Фалло встречали у средних и крупных собак.

Таблица 1 – Встречаемость стеноза клапана легочной артерии у собак разных пород

Порода собаки	Количество	Процент
Французский бульдог	34	34%
Американский Булли, Пинчер	6	12%
Кане-корсо	5	5%
Английский бульдог, чихуахуа, шпиц	4	12%
Йоркширский терьер, мальтийская болонка, беспородные собаки	3	9%
Джек-Рассел-терьер, немецкая овчарка, самоед, питбуль, ротвейлер, той терьер, цвергшнауцер	2	14%
Американский стаффордширский терьер, бигль, боксер, бультерьер, вест-хайленд-уайт-терьер, грифон, кавалер кинг-чарльз-спаниель, ка-де-бо, лабрадор, мопс, прайтер, пудель, шиба-ину, шотландская овчарка,	1	14%
Всего	100	100%

Таблица 2 – Описание собак, с диагностированным стенозом клапана легочной артерии, у которых также были выявлены другие пороки сердца, их частота встречаемости, а также породы, у которых данные аномалии сердца были диагностированы.

Врожденный порок сердца	Общее количество	Процентное соотношение от общего количества	Породы собак
Тетрада Фалло	10	10 %	Французские и английские бульдоги, американские Булли, Кане-корсо, мальтийские болонки, немецкие овчарки, каде-бо, беспородные собаки
Дефект межпредсердной перегородки	5	5 %	Французские бульдоги, пинчеры
Дисплазия трехстворчатого клапана	5	5 %	Пинчеры, кане-корсо, самоеды
Стеноз аорты	3	3 %	Американские Булли, грифоны, лабрадоры
дисплазия митрального клапана	2	2 %	пинчеры, собаки смешанных пород
Открытый артериальный проток	1	1 %	Пудели
Всего	23	23%	

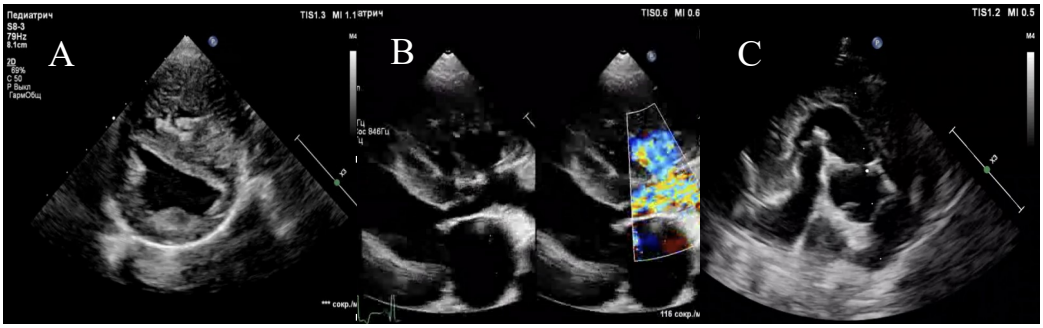


Рисунок 1. А – гипертрофия правого желудочка. В – Декстрапозиция аорты и дефект межжелудочковой перегородки. С – стеноз клапана легочной артерии.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В заключении, врожденные пороки сердца могут встречаться как по отдельности, так и в различных комбинациях. По нашим наблюдениям комбинация аномалий развития сердца встречается в 23%. Наиболее частые сочетания: стеноз легочной артерии + дефект межпредсердной перегородки, стеноз легочной артерии + стеноз аорты, стеноз легочной артерии + дисплазия трехстворчатого клапана. Данные аномалии чаще всего встречаются, так как дефект межпредсердной перегородки и дисплазия трехстворчатого клапана могут быть как самостоятельно развившимися аномалиями, так и следствием стеноза клапана легочной артерии. В первом случае, повышенное давление в правом предсердии приводит в некотором случае к невозможности закрытия овального окна, так как для полноценного формирования межпредсердной перегородки без открытых коммуникаций давление в левом предсердии должно быть выше, чем в правом предсердии. Если давление в правых отделах сердца в постнатальном периоде продолжают быть высокими, то овальное окно продолжает функционировать, дренируя кровь в левое предсердие. Во втором случае, повышенное давление в правом желудочке из-за наличия обструкции может приводить к неправильному формированию и повреждению трехстворчатого клапана.

COMBINATIONS OF PULMONARY ARTERY VALVE STENOSIS WITH OTHER CONGENITAL HEART DEFECTS IN DOGS

Trunov A.A. – PhD student (ORCID 0000 -0002- 6435-0363)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*gustavo1frink@gmail.com

ABCTRACT

The paper presents statistical results of identifying combinations of various congenital heart defects in dogs of different breeds diagnosed with pulmonary artery valve stenosis. The study was retrospective, conducted on the basis of the Department of General, Private and Operative Surgery, as well as in the veterinary clinic of neurology, traumatology and intensive care. The total sample amounted to 100 animals. All animals underwent a complete physical examination. The morpho-functional state of the heart was evaluated. Diagnosis was made by echocardiography using Doppler. Each congenital heart defect was evaluated and studied separately, noting its individual features and hemodynamic changes in the combination of several congenital anomalies of heart development. The study was conducted before performing surgical treatment of pulmonary artery valve stenosis by balloon plasty of the pulmonary artery valve. This study included animals with other cardiac anomalies in addition to obstructive right ventricular outflow tract disease. Among 100 dogs examined, the most frequent combined heart defect was Fallot's tetrad. This pathology was singled out separately, as its mechanism of development differs significantly from a simple combination of several anomalies of heart development. It is believed that this is one heart defect consisting of several components. In addition, atrial septal defect, mitral or tricuspid valve dysplasia, open ductus arteriosus, and aortic valve stenosis were found in combination with pulmonary valve stenosis. Combined heart defects were most common in French Bulldog dogs in this study, as this is the most common breed of dog diagnosed with pulmonary valve stenosis.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Кадыров Р. Р. Баллонная вальвулопластика при стенозе клапана лёгочной артерии / Кадыров Р. Р. Трунов А. А. // Ветеринарный Петербург / Редкол. В. В. Сотников (отв. Редактор) [и др.]. – Санкт-Петербург, 2021. — No 4. — С. 2-7.

2.Трунов А. А. Распространенность врожденных пороков сердца у собак в городе Санкт-Петербург / Трунов А. А. // Материалы 75-й юбилейной международной научной конференции молодых ученых и студентов СПбГУВМ, посвящённой объявленному в 2021 году Президентом РФ Путиным В.В. году науки и технологий /

Редкол. А.А. Стекольников (отв. редактор) [и др.]. – Санкт-Петербург, 2021. – С. 220-222.
3.Clinical Echocardiography of the Dog and Cat / Edit by Éric de Madron [et al.]. – [S. l.]: Elsevier, 2012. - P. 4-37.
4.Congenital heart disease in dogs: a retrospective study of 95 cases Stephany B. Lucina [et al.]. – Topics in Companion Animal Medicine 2020 - P. 1-22.
5.Congenital Pulmonic Stenosis a Retrospective study of 24 cases seen between 1990-1999 / Jelena M.E. Ristic [et al.]. – Journal of Veterinary Cardiology 2001 - P. 13-19.
6.Schrope D. Prevalence of congenital heart disease in 76,301 mixed-breed dogs and 57,025 mixed-breed cats / Schrope D. // Journal of Veterinary Cardiology, 2015. – Vol. 17, iss. 3.

REFERENCE

1.Kadyrov R. R. Balloon valvuloplasty for pulmonary valve stenosis / Kadyrov R. R. Trunov A. A. // Veterinary Petersburg / editor. V. V. Sotnikov. – St. Petersburg, 2021. — No 4. — P. 2-7.
2.Trunov A. A. Prevalence of congenital heart defects in dogs in the city of St. Petersburg / Trunov A. A. // Proceedings of the 75th Anniversary International Scientific Conference of Young Scientists and Students of St. Petersburg State University of Water Management dedicated to the Year of Science and Technology announced in 2021 by the President of the Russian Federation V.V. Putin. / Editor. A.A. Stekolnikov. – St. Petersburg, 2021. – P. 220-222.
3.Clinical Echocardiography of the Dog and Cat / Edit by Éric de Madron [et al.]. – [S. l.]: Elsevier, 2012. - P. 4-37.
4.Congenital heart disease in dogs: a retrospective study of 95 cases Stephany B. Lucina [et al.]. – Topics in Companion Animal Medicine 2020 - P. 1-22.
5.Congenital Pulmonic Stenosis a Retrospective study of 24 cases seen between 1990-1999 / Jelena M.E. Ristic [et al.]. – Journal of Veterinary Cardiology 2001 - P. 13-19.
6.Schrope D. Prevalence of congenital heart disease in 76,301 mixed-breed dogs and 57,025 mixed-breed cats / Schrope D. // Journal of Veterinary Cardiology, 2015. – Vol. 17, iss. 3.

УДК: 615.276:611.018.52:619
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.4.463

ВЛИЯНИЕ НЕСТЕРОИДНЫХ И СТЕРОИДНЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА АКТИВАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ IN VITRO

Бокарев А.В. – д-р ветеринар. наук, доц. кафедры общей, частной и оперативной хирургии (ORCID: 0000-0002-4623-5388); **Минина А.О.*** – канд. ветеринар. наук, доц. кафедры общей, частной и оперативной хирургии (ORCID: 0000-0002-4176-4053); **Горохов В.Е.** – канд. ветеринар. наук, асс. кафедры общей, частной и оперативной хирургии (ORCID: 0000-0002-3463-4808).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
*Bluzma-nast@yandex.ru

***Ключевые слова**: Кровь, крысы, тромбоциты, фибрин, гемостаз, циклооксигеназа, фосфолипаза-А2, нестероидные противовоспалительные препараты, стероидные противовоспалительные препараты, раневой процесс, регенерация, тромбоксан-А2.*

***Keywords:** Blood, rats, platelets, fibrin, hemostasis, cyclooxygenase, phospholipase -A2, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, steroid anti-inflammatory drugs, wound process, regeneration, thromboxane-A2.*

Поступила: 19.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты исследования по влиянию стероидных и нестероидных противоспалительных препаратов на тромбоциты. Объектом исследования была плазма, полученная из крови крыс (n=10). Забор крови (по 2,0 мл от каждого животного) осуществляли из хвостовой вены в пробирки с цитратом натрия. Подсчет клеточных элементов непосредственно в крови и в тромбоцитарной плазме проводили на гематологическом анализаторе МЕК-6550. Способность оказывать влияние на активацию тромбоцитов определялась у таких препаратов как дексаметазон, кетарол и милоксикам, которые вносили в пробирки перед реактивацией плазмы. Выяснено, что препараты данных групп воздействуют на метаболизм этих клеток и подавляют их способность вызывать контракцию сгустков. Выяснено, что сила негативного влияния на контракцию сгустка у стероидного препарата дексаметазон, который через посредников подавляет активность фосфолипазы-А2 и нестероидного препарата кетарол, который является преимущественным ингибитором циклооксигеназы первого типа, сходны. Так же выяснено, что препарат мелоксикам, который является преимущественным ингибитором циклооксигеназы второго типа, вызывает лишь незначительное уменьшение контракции тромбоцитарного сгустка. Результаты, полученные в эксперименте, указывают на прямую положительную связь между степенью контракции сгустков и количеством тромбоксана-А2 который синтезируется и выделяется именно активированными тромбоцитами. Известно, что способность тромбоцитов ускорять и усиливать регенеративные

процессы, так же напрямую связаны с их активацией. Исходя из этого, высказаны соображения, что, пациентам которым назначена терапия плазмой обогащенной тромбоцитами, в качестве противовоспалительных препаратов не следует использовать глюкокортикойды и препараты с высокой степенью селективности к циклооксигеназе первого типа.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Тромбоциты (Тр) млекопитающих это небольшие (2—9 мкм) безъядерные плоские бесцветные форменные элементы крови, образующиеся из мегакариоцитов. Тромбоциты отвечают за гемостаз и, как показали исследования последних лет, за процессы регенерации [1, 2, 3]. А учитывая то, что любые механические повреждения тканей животных начинаются с внешнего или внутреннего кровотечения, и в норме заканчиваются заживлением, следует заключить, что обе эти функции тромбоцитов имеет очень большое значение в патогенезе раневой патологии и должна учитываться при ее лечении. В том числе при лечении раневой и других видов патологий, при которых показано использование плазмы или сгустков обогащенных тромбоцитами (методы PRP или PRF-терапии) [4, 1, 5, 6, 7]. Вышеуказанные гемостатические и регенеративные функции тромбоциты осуществляют посредству выделяемых ими биологически активных веществ, которые, в свою очередь, секретируются только после их (тромоцитов) активации [8, 9]. Т.е., активация тромбоцитов является одним из ключевых событий, как при инициации процесса гемостаза, так и в процессе регенерации [10, 11, 12].

Механизм активации тромбоцитов и развитие последующих эффектов, на сегодняшний день до конца не изучены. И в этом вопросе существует множество, как не до конца выявленных, так и спорных моментов. Однако точно установлено, что влияние тромбоцитов на гемостаз осуществляется через, так называемые тромбоцитарные факторы свертывания [9]. А позитивное влияние на процесс регенерации осуществляется через белковые молекулы называемые факторами роста (Фр), которые обладают свойствами митогенов по отношению к клеткам различного гистогенетического происхождения [2].

Выделению указанных факторов тромбоцитами, как уже сказано выше, должна предшествовать их активация. В кровотоке неповрежденной ткани тромбоциты находятся в неактивном состоянии. Триггером активации тромбоцита является взаимодействие молекулы лиганда-активатора с соответствующим рецептором на его мембране. Такие лиганды появляются в тромбоцитарном окружении при нарушении целостности ткани и сосудистой стенки и/или при активации плазменного гемостаза in vitro. Молекул, которые обладают способностью активировать тромбоциты достаточно много. Равно как и на мембране тромбоцитов существует большое разнообразие рецепторов к высокомолекулярным и низкомолекулярным лигандам-активаторам [9, 11, 12]. Но в контексте нашего исследования можно выделить два основных триггера стимуляции. В том случае, когда происходит повреждение целостности тканей (закрытая или открытая травма) триггером активации тромбоцитов является связывание их мембранных рецепторов с коллагеном (при опосредовании фактора Виллибранта) поврежденной стенки кровеносного сосуда. В том же случае, когда цельная кровь или специально полученная тромбоцитарная плазма находится в пробирке, то триггером активации тромбоцитов является связывание специфических мембранных рецепторов тромбоцитов с тромбином [8, 9, 12]. Тромбин образуется в плазме крови из своего предшественника протромбина как продукт плазменного каскада свертывания. Если кровь или тромбоцитарная плазма стабилизирована цитратом натрия, то, из-за отсутствия четвертого фактора, которым является кальций, каскад свертывания не происходит. Тромбин из своего предшественника протромбина не образуется. И тромбоциты не активируются. В том же случае если соответствующие лиганды-активаторы типа коллагена, тромбина и некоторые других появляются в среде, с

которой контактируют тромбоциты, то процесс активации запускается и продолжается в виде сложных внутриклеточных реакций, результатом которых является высвобождение во внешнюю среду большого количества белковых и небелковых биологически активных веществ. Цитратная плазма крови полностью лишенная клеток, в том числе и тромбоцитов, после реактивации in vitro ионами кальция, способна к коагуляции и образованию сгустка. Но такой сгусток практически не способен к контракции [13]. Однако присутствие в такой плазме тромбоцитов позволяет запустить процесс контракции и сформировать более компактный сгусток, морфология которого обусловлена возникновением очень плотной мелкоячеестой фибриновой сетки в узловых элементах которой содержаться тромбоцитарные агрегаты [11, 13].

Обнаружение того, что такой ингибитор циклооксигеназ как аспирин профилактирует образование тромбов in vivo показало, что биомеханика контракции фибриново-тромбоцитарного сгустка зависит от тромбоксана-А2 [14]. Выяснено, что тромбоциты, первично активированные коллагеном и/или тромбином, синтезируют и выделяют тромбоксан-А2, который, по механизму аутокринной и паракринной секреции, активирует другие тромбоциты. В том числе, усиливая экспрессию на их мембране рецепторов к фибрину. Благодаря которым тромбоциты обретают способность формировать тромбоцитарно-фибриновую сеть и осуществлять контракцию сгустка.

Таким образом получается, что если контракция сгустка зависит от тромбоксана-А2, а тромбоксан -А2 выделяется одними активированными тромбоцитами и является мощным активатором других тромбоцитов, то степень контракции отдельно взятого тромбоцитарно-фибринового сгустка может служить визуальным маркером активации общего тромбоцитарного пула, вовлеченного в гемостаз. Возвращаясь к вопросу раневой патологии, следует обратить внимание на то, что ни одна раневая патология не заживает без участия воспалительного процесса. Который, в некоторых случаях, протекает в гиперэргической форме и/или с сильной болевой реакцией. Для предотвращения подобных осложнени и для контроля над воспалительной реакцией, в клинической практике используются различные нестероидные (НПВС) и стероидные (СПВС) противовоспалительные препараты [8, 10]. Механизм действия НПВС обусловлен тем, что данная группа препаратов является ингибитором ферментов циклооксигеназ (ЦИК), которые катализируют реакцию превращения арахидоновой кислоты в простагландин Н2 (PGH_2). Который, в свою очередь, является предшественником остальных простагландинов, простациклина и тромбоксана-А2 [14]. А механизм действия СПВС связан с тем, что они через ряд промежуточных биохимических реакций (ингибирование фермента фосфолипаза-А2) подавляют высвобождение арахидоновой кислоты из фосфолипидов клеточной мембраны, тем самым понижая ее концентрацию в цитоплазме клеток и лишая тромбоцит субстрата для синтеза простогландинов. Одновременно с подавлением высвобождения арахидоновой кислоты происходит и подавление образования лизофосфатидилхолина, который, является предшественником биологически активного соединения являющегося одновременно и медиатором воспаления и фактором активации тромбоцитов (ФАТ) [10]. Подытожив вышесказанное, можно сказать, что НПВС и СПВС, исходя из их фармакологических свойств, априори должны влиять не только на интенсивность воспалительной реакции, но и на активацию тромбоцитов.

С другой стороны, известно, что механизм фармакодинамического действия СПВС отличается от НПВС. А различные препараты, относящиеся к группе НПВС, отличаются друг от друга по специфичности ингибирования ЦОГ-1 или ЦОГ-2. Исходя из этого, можно так же предположить, что степень влияния этих препаратов на активацию тромбоцитов выраженную в степени контракции сгустков так

же будет отличаться. Цель исследования – сравнить степень влияния стероидных и нестероидных противовоспалительных препаратов на активацию тромбоцитов.

Для достижения поставленной цели, кровь, полученную от лабораторных животных, стабилизировали цитратом натрия. Затем из цельной крови получали плазму обогащенную тромбоцитами. Реактивацию гемостатических реакций плазмы и тромбоцитов проводили путем добавления раствора хлорида кальция. В опытных образцах реактивацию проводили в присутствии противовоспалительных препаратов. В контрольных образцах препараты не добавлялись. Результат оценивали по абсолютному и относительному объёму образовавшихся сгустков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объектом исследования была плазма, полученная из крови крыс (n=10). Забор крови (по 2,0 мл от каждого животного) осуществляли из хвостовой вены в пробирки с цитратом натрия. Подсчет клеточных элементов непосредственно в крови и в тромбоцитарной плазме проводили на гематологическом анализаторе МЕК-6550. Для получения бесклеточной и тромбоцитарной плазмы кровь помещали в центрифугу ОПН-3. Для получения бесклеточной плазмы, кровь центрифугировали в течении 15 минут при 3000 оборотах в минуту. Для получения плазмы обогащенной тромбоцитами и лишенную эритроцитов и лейкоцитов, кровь центрифугировали в два этапа. Первое центрифугирование 1 минута при 3000 оборотов в минуту. И следующее центрифугирование 10 минут при 1000 оборотов в минуту [15]. Полученные образцы плазмы отделяли от эритроцитарно-лейкоцитарного осадка и разливали по 1 мл. в пробирки эппендорф. Для получения сгустков путем реактивации процесса коагуляции, в каждую пробирку вносили по 0,025 мл 10 % раствора кальция хлорида. После чего пробирки помешали на 90 минут в водяную баню при t-37,0 ^{0}C. Способность оказывать влияние на активацию тромбоцитов определялась у таких препаратов как дексаметазон, кетарол и милоксикам, которые вносили в пробирки перед реактивацией плазмы. Выбор препаратов основывался на их селективности по отношению к ЦОГ-1 и ЦОГ-2 и фосфолипазы-А2. Каждый препарат в дозе 0,025 мл вносился в отдельную пробирку. В контрольные пробирки вместо указанных препаратов вносили эквивалентный объём 0,85% раствор хлорида натрия. Соотношение объёма плазмы к объёму препарата составляло 40:1. Препараты вносили в гипертерапевтических дозах, чтобы полностью ингибировать соответствующие им метаболические пути активации тромбоцита и избежать явления «доза-эффект». Коммерческие ампулированные препараты содержали действующего вещества: милоксикам – 10мг/мл; кеторол – 30мг/мл; дексаметазон – 4мг/мл. В пересчете на 1,0 мл плазмы доза препаратов составила: милоксикам – 0,25 мг; кеторол – 0,75 мг; дексаметазон – 0,1 мг. После окончания культивирования все пробирки извлекали, фотографировали, визуально на глаз определяли разницу в размерах сгустка, а также определяли степень ретракции сгустка по методу Макферлейна. Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью персонального компьютера на программе BioStat Professional 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

На подготовительном этапе были получены бесклеточные образцы плазмы, а также образцы плазмы, содержащие тромбоцитов в количестве от 950×10^3 до 600×10^3 клеток в микролитре (Рисунок 1). В опыте использовали концентрацию тромбоцитов $700\times10^{3\pm}50\times10^3$ клеток в микролитре, доводя исходную концентрацию до нужной, путем либо разбавления бесклеточной плазмой, либо используя дополнительное концентрирующее центрифугирование.

Исследования бесклеточной плазмы подтвердили то, что в отличие от тромбоцитарного сгустка, бесклеточный фибриновый сгусток не подвергается контракции ни через 1 час, ни через 90 минут, ни в более поздние сроки (Рисунок 2).

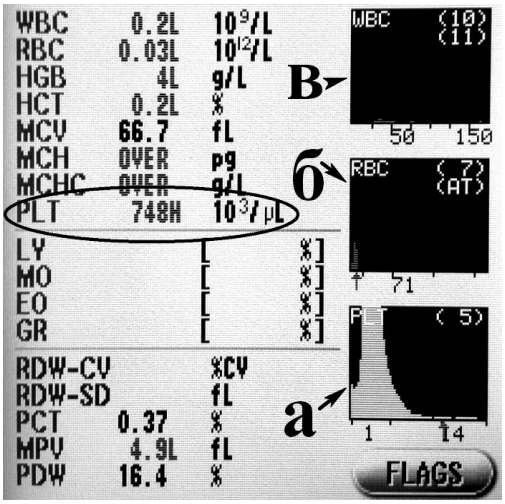


Рисунок 1 – Гистограмма тромбоцитарной плазмы полученной после двухступенчатого центрифугирования. а – окно тромбоцитов, б – окно эритроцитов, в – окно лейкоцитов. Обведено содержание тромбоцитов в одном мкл плазмы.

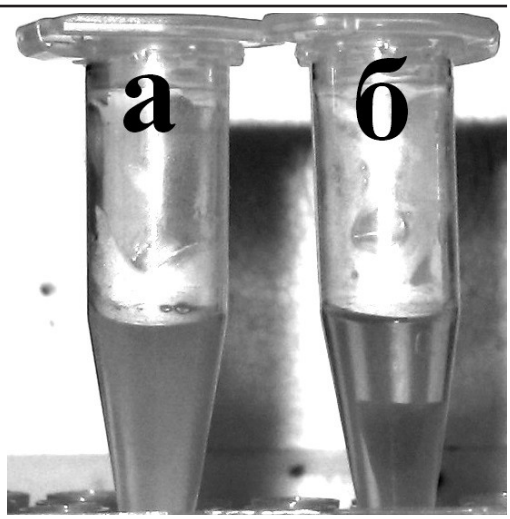


Рисунок 2 – Сравнительная контракция сгустков через 90 минут после инкубирования при 37^{0}С реактивированных образцов плазмы. а – бесклеточная плазма, б – тромоцитарная плазма.

Таблица 1 – Степень влияния СПВС и НПВС на контракцию тромбоцитарного сгустка выявленная по методу Макферлейна

	Группа противовоспалительного препарата	Вид противовоспалительного препарата	Объём сгустка полученного из 1,0 мл. плазмы (мл)	Объём сгустка относительно объёма исходной плазмы (%)	Изменение объёма сгустка (V) относительно контроля ($V_{опыт}$/ $V_{контроль}$)
1	контроль	------	13,20± 2,40	13,20± 2,40	1,0
2	СПВС	дексаметазон	55,30±5,64	55,30±5,64	>4,20
3	НПВС	кетарол	46,60±3,75	46,60±3,75	>3,53
4		мелоксикам	17,00±3,10	17,00±3,10	>1,30

Множественные сравнения – Критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони			Критерий Стьюдента – между 1 и 4 группами
Сравнение	t	P<0,05	t = -3,004;
2 и 1:	24,11	Да	число степеней свободы = 18;
2 и 4:	22,00	Да	P = 0,008
2 и 3:	5,00	Да	
3 и 1:	19,13	Да	
3 и 4:	17,01	Да	
4 и 1:	2,12	Нет	

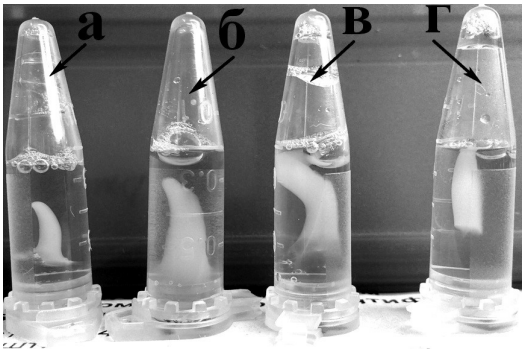


Рисунок 3 – Сравнительная контракция сгустков в реактивированных образцов тромбоцитарной плазмы. а – контрольная плазма; б – реактивация в присутствии дексаметазона; в – реактивация в присутствии кетарола; г - реактивация в присутствии мелоксикама. Реактивированные образцы плазы инкубировали 90 минут при 37^{0}С.

В то же время данное исследование показало, что ни НПВС, ни СПВС не оказывают, ни какого, ни позитивного, ни негативного влияния на формирование и размеры бесклеточного фибринового сгустка.

Исследование контракции тромбоцитарного сгустка показало, что имеют место четкие визуально наблюдаемые отличия в размерах сгустков формирующихся в контрольной плазме и в тех образцах плазмы, в которые перед реактивацией гемостаза были внесены СПВС и НПВС (Рисунок 3). Сгусток, который образовался в контрольной плазме, имел минимальные размеры (Рисунок 3а). Т.е., имел самую высокую степень контракции. Максимальный размер наблюдался у сгустка, сформировавшегося в присутствии дексаметазона (Рисунок 3б). Сгусток, сформировавшийся в плазме содержащую милоксикам минимально отличался в сторону увеличения от контрольного (Рисунок 3г). Сгусток, сформировавшийся в присутствии кетарола имел несколько меньшие размеры, чем сгусток, образовавшийся в присутствии дексаметазона (Рисунок 3в), но был значительно больше, чем сгусток, сформировавшийся в присутствии милоксикама.

Точные количественные показатели размеров сгустков, подсчитанные методом Макферлейна, подтвердили закономерность выявленную визуально (Таблица 1). Минимальное влияние на изменение размера сгустка в сравнении с контролем показал препарат мелоксикам. Размеры данных сгустков были только в 1,3 раза больше, чем размеры контрольных.

Максимальное негативное влияние на контракцию тромбоцитарных сгустков, объём которых более чем в четыре раза превысил размер контрольных, оказал препарат дексаметазон. Объём сгустка, сформировавшегося в присутствии кетарола занимал среднюю позицию между сгустком, сформировавшимся в присутствии дексаметазона и сгустком, формировавшимся в присутствии мелоксикама и был более чем в 3,5 раза больше, чем объём контрольного.

Таким образом, если оценивать способность испытанных препаратов препятствовать активации тромбоцитов по их негативному влиянию на контракцию сгустков, то наиболее сильным в этом отношении препаратом является преднизолон. Следующим по силе негативного влияния на активацию тромбоцитов является кетарол. И наиболее слабо подавляет активацию тромоцитов мелоксикам. Причем негативное действие мелоксикама, количественно рассчитанное методом Макферлейна имеет низкую статистическую достоверность (Таблица 1).

Обращают на себя внимание два момента. Первый что несмотря на то, что оба препарата и кетарол и мелоксикам относятся к противовоспалительным препаратам одной группы, их степень инактивирующего влияния на тромбоциты значительно отличается. Второй, кетарол и дексаметазон отличаются по механизму противовоспалительного действия, но их негативное влияние на активацию тромбоцитов, проявляющееся в ослаблении

контракции тромбоцитарных сгустков, сходно по силе. Данный артефакт может быть объяснён тем, что в представленном эксперименте первичная активация тромбоцитов индуцировалась только тромбином, но в дальнейшем зависела от трамбоксана-А2, который синтезируется из арахидоновой кислоты при участии ЦОГ1 [14]. Мелоксикам является слабым ингибитором ЦОГ1. Его ингибирующие свойства направлены в основном на ЦОГ2. Коэффициент селективности ЦОГ1/ЦОГ2 мелоксикама находится в пределах 0,33 – 0,80. Поэтому он очень слабо подавляет синтез тромбоксана-А2. Катарол, наоборот, имеет выраженную селективность в отношении ЦОГ1 и поэтому сильно подавляет синтез тромбоксана-А2. Его коэффициент селективности ЦОГ1/ЦОГ2 больше 2,50. Именно сила подавления синтеза тромбоксана-А2 делает кетарол столь же эффективным ингибитором активании тромбоцитов. Дексаметазон хоть и не ингибирует на прямую ЦОГ1, но (через подавление активности фосфолипазы-А2) препятствует увеличению концентрации арахидоновой кислоты в цитоплазме тромбоцитов и лишает ЦОГ1 субстрата для синтеза тромбоксана-А2. Параллельно происходит и блокирование высвобождения и лизофосфатидилхолина – предшественника фактора активации тромбоцитов. Более выраженный противовоспалительный эффект дексаметазона и, возможно, более выраженную его способность подавлять активацию тромбоцитов можно объяснить тем, что, понижая в клетке концентрацию арахидоновой кислоты он, тем самым уменьшает синтез всех эйкозанойдов. И тех, которые зависимы от ЦОГ1, и тех, которые зависимы от ЦОГ2, и тех, которые зависимы от липоксигеназы.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, проанализировав материал собственных исследований и данные изложенные в научной периодике можно сделать предварительный вывод, что использование СПВС, которые понижают в клетке концентрацию арахидоновой кислоты, и тех НПВС, которые обладают высокой селективностью к ЦОГ1, одновременно с применением PRP или PRF терапии может понизить их ранозаживляющую эффективность последней. Однако, выше сказанное следует проверить путем постановки более масштабного эксперимента in vitro, в котором следует использовать сразу несколько НПВС со сходной селективной ингибирующей активностью к ЦОГ-1 и ЦОГ-2. А также подтверждением данного вывода эксперимента in vivo на модельной ране.

EFFECT OF NONSTEROIDAL AND STEROID ANTI-INFLAMMATORY DRUGS ON PLATELET ACTIVATION IN VITRO

Bokarev A.V. – Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of General, Private and Operative Surgery (ORCID: 0000-0002-4623-5388); **Minina A.O.*** – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of General, Private and Operative Surgery (ORCID: 0000-0002-4176-4053); **Gorokhov V.E.** – Candidate of Veterinary Sciences, Assistant of the Department of General, Private and Operative Surgery (ORCID: 0000-0002-3463-4808).

Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "St. Petersburg State University of Veterinary Medicine".

*Bluzma-nast@yandex.ru

ABSTRACT

The article presents the results of a study on the effect of steroid and nonsteroidal anti-inflammatory drugs on platelets.

The object of the study was plasma obtained from rat blood (n=10). Blood sampling (2.0 ml from each animal) was carried out from the tail vein into test tubes with sodium citrate. Cell elements were counted directly in blood and in platelet plasma using a MEK-6550 hematological analyzer.

The ability to influence platelet activation was determined in drugs such as dexamethasone, ketarol and miloxicam, which were injected into test tubes before plasma reactivation.

It was found that the drugs of these

groups affect the metabolism of these cells and inhibit their ability to cause clot contraction. It was found that the strength of the negative effect on clot contraction in the steroid drug dexamethasone, which through intermediaries suppresses the activity of phospholipase-A2 and the nonsteroidal drug ketarol, which is the predominant inhibitor of cyclooxygenase of the first type, are similar. It was also found out that the drug meloxicam, which is a predominant inhibitor of cyclooxygenase of the second type, causes only a slight decrease in platelet clot contraction. The results obtained in the experiment indicate a direct positive relationship between the degree of clot contraction and the amount of thromboxane-A2, which is synthesized and released by activated platelets. It is known that the ability of platelets to accelerate and enhance regenerative processes is also directly related to their activation. Based on this, it is suggested that patients who have been prescribed platelet-enriched plasma therapy should not use glucocorticoids and preparations with a high degree of selectivity to cyclooxygenase of the first type as anti-inflammatory drugs.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ.

1. Влияние лейкоцитарной примеси на ранозаживляющий эффект тромбоцитарного сгустка / А.В. Бокарев, М.В. Свердлова, А.О. Минина, Р.Д. Холодный // Международный вестник ветеринарии. – 2022. – № 4. – С. 427 - 433.
2. Влияние факторов роста тромбоцитарного происхождения на пролиферацию клеток / А.Н. Свешникова, Е.В. Шамова, И.С. Колесникова [и др.] // В книге: Сборник тезисов XXIV съезда физиологического общества им. И. П. Павлова. Сборник тезисов съезда. Санкт-Петербург, 2023. – С. 223.
3. 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 // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2021. – № 3. – С. 92-93.
4. Базикян, Э.А. сравнительный анализ применения в клинической практике обогащенного лейкоцитами и тромбоцитами фибринового сгустка при заполнении лунок удаленных зубов / Э.А. Базикян, И.И. Тарба, Г.А. Воложин // Российская стоматология. – 2020. – Т. 13. – № 1. – С. 16-17.
5. К вопросу о применении обогащенных тромбоцитами фибриновых сгустков / С.Г. Пахлеванян, Л.В. Шевченко, А.Ю. Шевченко [и др.] // Актуальные проблемы медицины. – 2022. – Т. 45. – № 4. – С. 388-399.
6. Опыт применения плазмы обогащенной тромбоцитами при лечении пациентов с обширными раневыми дефектами / Д.С. Третьяк, А.П. Трухан, Д.В. Васильев [и др.] // Медицинский журнал. – 2023. – № 2 (84). – С. 108-112.
7. Стимуляция остеорегенерации с помощью PRP-терапии / И.А. Родин, И.Г. Киселёв, Л.П. Вишнивецкая [и др.] // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2018. – № 3 (71). – С. 186-190.
8. Влияние 3'''-О-ацетилэмбинина на активацию тромбоцитов, индуцированную тромбином / Пронин Н.А. // В сборнике: Молодая фармация - потенциал будущего. Сборник материалов XII всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием. Санкт-Петербург, 2022. – С. 397-401.
9. Динамика функциональных ответов тромбоцитов в процессе генерации тромбина во время свертывания крови: отчет о НИР (заключ.) : 05-104 [Электронный ресурс]/ ФГБОУН ЦТПФХФ РНФ ; рук. Е.М. Кольцова. – Москва, 2020. -№ ГР 20-75-00057. – URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_39266958_81005685.pdf (дата обращения 13.10.2023).
10. Влияние местных антисептиков и противовоспалительных средств на функциональную активность богатой тромбоцитами плазмы при комплексной терапии пародонтита / Л.Ю. Орехова, Т.В. Кудрявцева, Т.В. Вавилова, В.В. Тачалов // Пародонтология. – 2008. – № 1 (46). – С. 61-64.
11. Кузник, Б.И. К объективной оценке

истинной ретракции кровяного сгустка / Б.И. Кузник, М.А. Котовщикова // Лабораторное дело. – 1964. – № 9. – С. 524.
12. Процессы метаболизма и механизмы регуляции активности тромбоцитов (обзор литературы) /А.В. Халиулин, О.А. Гусякова, А.В. Козлов, А.И. Габрильчак // Клиническая лабораторная диагностика. – 2019. – № 3. – С. 164-169.
13. Morphology of fibrin and fibrin-platelet & fibrin-platelet-leukocyte clots / M. Sverdlova, A. Bokarev, A. Stekolnikov [et al.] // International Transaction Journal of Engineering, Management and Applied Sciences and Technologies. - 2021. – Т. 12. – № 7. – P. 12A7N.
14. Шпакова, В.С. Влияние арахидоновой кислоты на функции тромбоцитов / В.С. Шпакова, С.П. Гамбарян, Н.И. Рукояткина // В сборнике: рецепторы и внутриклеточная сигнализация / [Под редакцией В.П. Зинченко, А.В. Бережнова] - Рецепторы и внутриклеточная сигнализация. – 2019. – С. 123-127.
15. Способ получения плазмы, обогащенной тромбоцитами, из малых объёмов крови [Текст]: пат. 2789518 Рос. Федерация: МПК A 61 K 35/19, A 61 K 35/16, G 01 N 33/49 / А.А. Стекольников, А.В. Бокарев, В.Е. Горохов [и др.] ; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО СПбГУВМ. - № 2022113042; заявл. 13.05.2022; опубл. 06.02.2023, Бюл. № 4. – 5 стр: ил.

REFERENCES

1. The influence of leukocyte admixture on the wound-healing effect of a platelet clot / A.V. Bokarev, M.V. Sverdlova, A.O. Minina, R.D. Kholodny // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2022. – No. 4. – pp. 427-433.
2. The influence of platelet-derived growth factors on cell proliferation / A.N. Sveshnikova, E.V. Shamova, I.S. Kolesnikova [et al.] // In the book: Collection of theses of the XXIV Congress of the I. P. Pavlov Physiological Society. Collection of theses of the Congress. St. Petersburg, 2023. – p. 223.
3. The reaction of the skin of rats to the introduction of autologous cell-free blood plasma or plasma containing platelets and other leukocytes / M.V. Sverdlova, A.V. Bokarev, A.A. Stekolnikov, A.O. Minina // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. - 2021. – No. 3. – pp. 92-93.
4. Bazikyan, E.A. comparative analysis of the use in clinical practice of a fibrin clot enriched with leukocytes and platelets when filling holes of extracted teeth / E.A. Bazikyan, I.I. Tarba, G.A. Volozhin // Russian dentistry. – 2020. – Vol. 13. – No. 1. – pp. 16-17.
5. On the issue of the use of platelet-enriched fibrin clots / S.G. Pakhlevanyan, L.V. Shevchenko, A.Yu. Shevchenko [et al.] // Actual problems of medicine. – 2022. – Vol. 45. – No. 4. – pp. 388-399.
6. Experience of using platelet-enriched plasma in the treatment of patients with extensive wound defects / D.S. Tretyak, A.P. Trukhan, D.V. Vasiliev [et al.] // Medical Journal. – 2023. – № 2 (84). – Pp. 108-112.
7. Stimulation of osteoregeneration with PRP therapy / I.A. Rodin, I.G. Kiselev, L.P. Vishnivetskaya [et al.] // Izvestiya Orenburg State Agrarian University. – 2018. – № 3 (71). – Pp. 186-190.
8. The effect of 3'''-O-acetylembinin on platelet activation induced by thrombin / Pronin N.A. // In the collection: Young pharmacy - the potential of the future. Collection of materials of the XII All-Russian scientific conference of students and postgraduates with international participation. St. Petersburg, 2022. – pp. 397-401.
9. Dynamics of platelet functional responses in the process of thrombin generation during blood clotting: research report (conclusion) : 05-104 [Electronic resource]/ FGBONE CTPFHF RNF ; hand. E.M. Koltsova. – Moscow, 2020. -No. GR 20-75-00057. – URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_39266958_81005685.pdf (accessed 13.10.2023).
10. The influence of local antiseptics and anti-inflammatory agents on the functional activity of platelet-rich plasma in the complex therapy of periodontitis / L.Yu. Orekhova, T.V. Kudryavtseva, T.V. Vavilova, V.V. Tachalov // Periodontology. – 2008. – № 1 (46). – Pp. 61-64.

11. Kuznik, B.I. To an objective assessment of the true retraction of a blood clot / B.I. Kuznik, M.A. Kotovshchikova // Laboratory business. – 1964. – No. 9. – p. 524.
12. Metabolic processes and mechanisms of regulation of platelet activity (literature review) /A.V. Khaliulin, O.A. Gusyakova, A.V. Kozlov, A.I. Gabrilchak // Clinical laboratory diagnostics. – 2019. – No. 3. – pp. 164-169.
13. Morphology of fibrin and fibrin-platelet & fibrin-platelet-leukocyte clots / M. Sverdlova, A. Bokarev, A. Stekolnikov [et al.] // International Transaction Journal of Engineering, Management and Applied Sciences and Technologies. - 2021. – Vol. 12. – No. 7. – P. 12A7N.
14. Shpakova, V.S. The effect of arachidonic acid on platelet functions / V.S. Shpakova, S.P. Gambaryan, N.I. Hiltkina // In the collection: receptors and intracellular signaling / [Edited by V.P. Zinchenko, A.V. Berezhnov] - Receptors and intracellular signaling. – 2019. – pp. 123-127.
15. A method for obtaining platelet-enriched plasma from small volumes of blood [Text]: pat. 2789518 Grew. Federation: IPC A 61 K 35/19, A 61 K 35/16, G 01 N 33/49 / A.A. Stekolnikov, A.V. Bokarev, V.E. Gorokhov [et al.]; applicant and patent holder of the SPbGUVM. - No. 2022113042; application 13.05.2022; publ. 06.02.2023, Bul. No. 4. – 5 pages: ill.

УДК: 615.216.84.03:617.713-001.41
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.4.473

СРОКИ УДЕРЖАНИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ КРАСИТЕЛЕЙ НА РЕЗАНОЙ РАНЕ РОГОВИЦЫ

Минина А.О. * – канд. ветеринар. наук, доц. кафедры общей, частной и оперативной хирургии (ORCID: 0000-0002-4176-4053); **Бокарев А.В.** – д-р ветеринар. наук, доц. кафедры общей, частной и оперативной хирургии (ORCID: 0000-0002-4623-5388); **Пилипец Е.Я.** – асп. кафедры общей, частной и оперативной хирургии (ORCID: 0000-0002-0735-523X); **Прудникова Е.В.** – канд. ветеринар. наук, асс. кафедры общей, частной и оперативной хирургии (ORCID: 0000-0002-9866-1231).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
*Bluzma-nast@yandex.ru

***Ключевые слова**: крысы, резаные раны роговицы, флуоресцеин, рибофлавин, бенгальский розовый, лиссаминовый зеленый.*
***Keywords:** rats, corneal incision wounds, fluorescein, riboflavin, bengal pink, lissamine green.*

Поступила: 19.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Проводили сравнительные исследования четырех основных офтальмологических красителей по их способности, после однократной кратковременной экспозиции, окрашивать резаную рану роговицы. Для исследования были отобраны 12 годовалых крыс линии «Вистар» массой 180-220 грамм. Из них сформировали 4 опытные группы по 3 крысы в каждой. Всем животным наносили резаные раны роговицы. Для обезболивания роговицы использовали 10,0% раствор лидокаина. Перед нанесением резаной раны животных вводили в наркоз препаратом «Севофлуран». Контроль глубины наносимой раны проводился визуально при помощи микроскопа при увеличении в 4-6 раз. Далее проводили окрашивание резаной раны роговицы различными красителями: животным 1 группы – флуоресцеином, 2 группы – рибофлавином, 3 группы – бенгальским розовым, 4 группы – лиссаминовым зеленым. Экспозиция всех красителей, до устранения излишков, составляла 1 минуту. Степень окрашивания роговицы оценивали и фотодокументировали сразу после устранения излишков красителей и далее через 10 мин., 20 мин., 30 мин., 60 мин., 90 мин., и 120 мин. Роговицу визуализировали и фотодокументировали при помощи микроскопа «jingleszcn 315W» при увеличении х 6.0. При длительных исследованиях целесообразно использовать бенгальский розовый, который визуализирует раневой дефект в течение 60 минут после окрашивания. Лиссаминовый зеленый следует использовать в случаях, когда необходим контраст между красителем и роговицей, и/или нижележащими структурами глаза. Флуоресцеин и рибофлавин достаточно быстро диффузно распространяются в окружающие ткани, а также окрашивают слезную пленку, что может давать ложноположительный результат при диагностике раневого дефекта роговицы.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В настоящее время в ветеринарной офтальмологии для исследования дефектов роговицы наиболее часто используется флуоресцеин. Он доступен, применяется в виде раствора и тест - полосок, с его помощью возможно проведение нескольких тестов одновременно [1, 2, 3].

В гуманной медицине помимо флуоресцеина используется бенгальский розовый и лиссаминовый зеленый. [4, 5, 6].

В некоторых случаях вместо флуоресцеина используют рибофлавин [7].

У каждого красителя есть свои плюсы и минусы, которые необходимо учитывать при анализе результатов диагностики повреждений роговицы [4].

Флуоресцеин визуализирует участки роговицы с поврежденным/ отсутствующим эпителием. Но в то же время может препятствовать этой визуализации маскируя участки повреждения растворившись в слезной пленке [8, 9].

Рибофлавин, являясь водорастворимым витамином помимо окрашивания раневого дефекта, легко проникает в межклеточное пространство и может окрашивать также здоровые участки роговицы [7].

Бенгальский розовый окрашивает не только мертвые или погибающие клетки, но и здоровые клетки. А, так же окрашивать роговицу проникая по межклеточным пространствам. Но такое окрашивание может происходить только в случае отсутствия или повреждения слезной пленки. Проникая через клеточную мембрану бенгальский розовый может окрашивать ядра клеток [6, 10].

Лиссаминовый зеленый окрашивает главным образом ядра мертвых клеток и/ или клетки с поврежденной мембраной. Другой его особенностью является то, что окрашивание лиссаминовым зеленым видно с большим контрастом на красном фоне [11, 12, 13].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводили на крысах линии Вистар. В эксперименте было использовано 12 годовалых самцов массой 180-220 грамм. Всем животным наносили резаные раны роговицы до стромального слоя. Для этих целей использовали хирургический скальпель.

Для обезболивания роговицы использовали 10,0% раствор лидокаина. Перед нанесением резаной раны животных вводили в наркоз препаратом «Севофлуран». Контроль глубины наносимой раны проводился визуально при помощи микроскопа при увеличении в 4-6 раз.

Для проведения эксперимента животных разделили на 4 групп, в каждой группе по 3 животных. Первой группе животных роговицы окрашивали флуоресцеином (Рисунок 1А). Второй группе животных рану роговицы окрашивали 1% раствором рибофлавина (Рисунок 2А). Третьей группе животных рану роговицы окрашивали бенгальским розовым (Рисунок 3А). Четвертой группе животных рану роговицы окрашивали лиссаминовым зеленым (Рисунок 4А). Окрашивание флуоресцеином, бенгальским розовым и лиссаминовым зеленым проводили при помощи полосок с указанными красителями. Тест полоску предварительно смачивали физиологическим раствором хлорида натрия 0,9%, затем полоски с красителями вносили на поверхность роговицы. Экспозиция всех красителей, до устранения излишков, составляла 1 минуту.

Степень окрашивания роговицы оценивали и фотодокументировали сразу после устранения излишков красителей и далее через 10 мин., 20 мин., 30 мин., 60 мин., 90 мин., и 120 мин. Без введения подопытных животных в наркоз.

Роговицу визуализировали и фотодокументировали при помощи микроскопа «jingleszcn 315W» при увеличении х 6.0 подключенного к персональному компьютеру.

Для визуализации флуоресцентных красителей использовали источник ультрафиолетового света.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Исследование резаной раны роговицы у крыс в 1 группе показало, что флуоресцеин хорошо прокрашивает дефект

сразу после инстилляции и удерживается в нем в течение 10 минут (Рисунок 1 А, Б). При этом также хорошо прокрашивается слезная пленка. С 20 минуты раневой дефект уже имеет размытые границы, что уменьшает контрастность повреждения и тем самым затрудняет диагностику (Рисунок 1 В, Г). С 60 минуты окрашивание раневого дефекта не визуализируется (Рисунок 1 Д, Е, Ж).

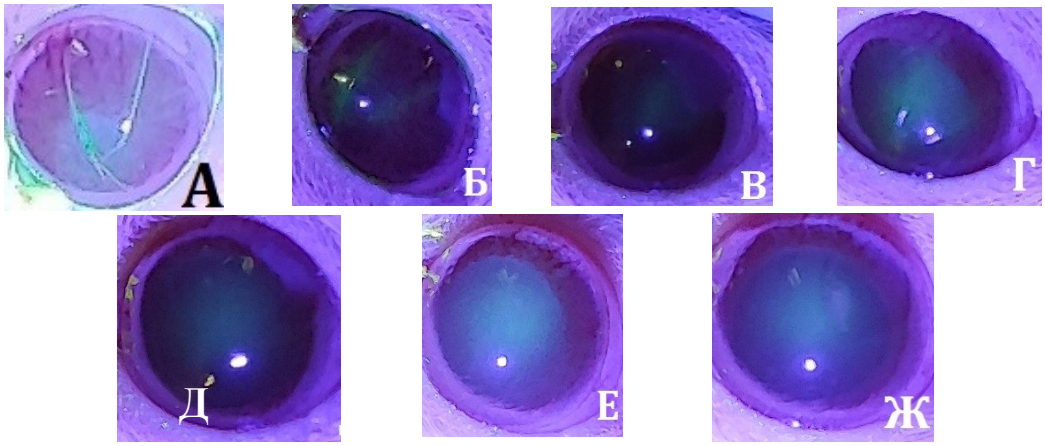


Рисунок 1 – Внешний вид окрашенной флуоресцеином раны роговицы. А - 0 мин. после окрашивания; Б - через 10 мин. после окрашивания; В - через 20 мин. после окрашивания; Г - через 30 минут после окрашивания; Д - через 60 мин. после окрашивания; Е - через 90 мин. после окрашивания; Ж - через 120 мин. после окрашивания.

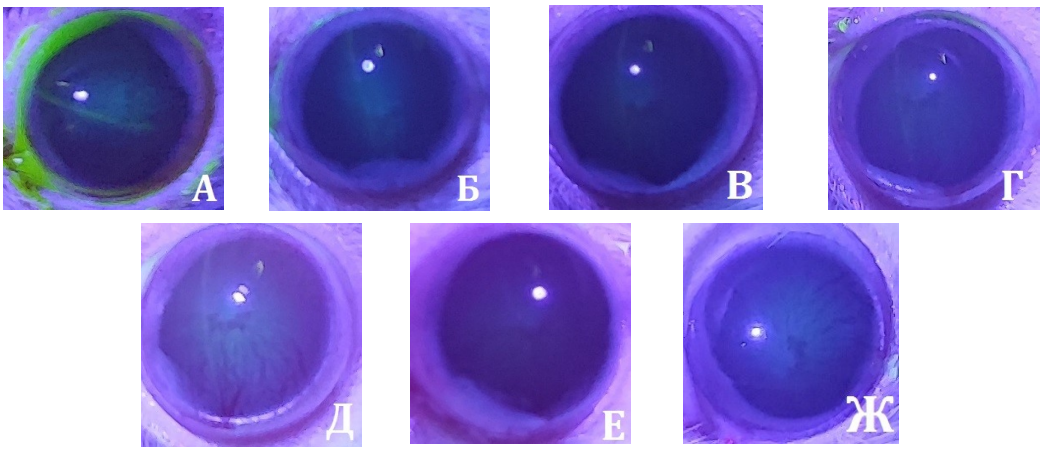


Рисунок 2 – Внешний вид окрашенной рибофлавином раны роговицы. А - 0 мин. после окрашивания; Б - через 10 мин. после окрашивания; В - через 20 мин. после окрашивания; Г - через 30 минут после окрашивания; Д - через 60 мин. после окрашивания; Е - через 90 мин. после окрашивания; Ж - через 120 мин. после окрашивания.

При окрашивании роговицы с резаной раной рибофлавином, дефект четко визуализируется сразу после окрашивания (Рисунок 2 А). Через 10 минут окраска дефекта размывается (Рисунок 2 Б, В, Г, Д). А к 90 минуте не визуализируется вовсе (Рисунок 2 Е, Ж).

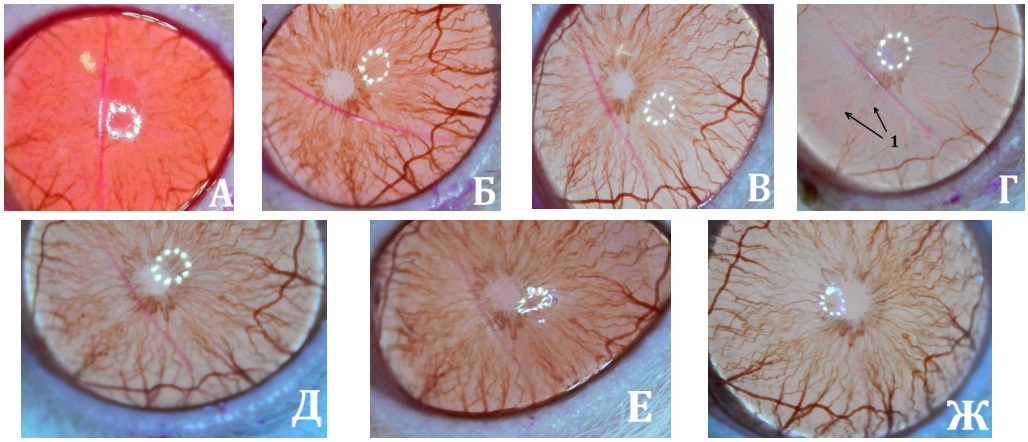


Рисунок 3 – Внешний вид окрашенной бенгальским розовым раны роговицы. А - 0 мин. после окрашивания; Б - через 10 мин. после окрашивания; В - через 20 мин. после окрашивания; Г - через 30 минут после окрашивания, стрелками указаны мелкопятнистые диффузные окрашивания; Д - через 60 мин. после окрашивания; Е - через 90 мин. после окрашивания; Ж - через 120 мин. после окрашивания.

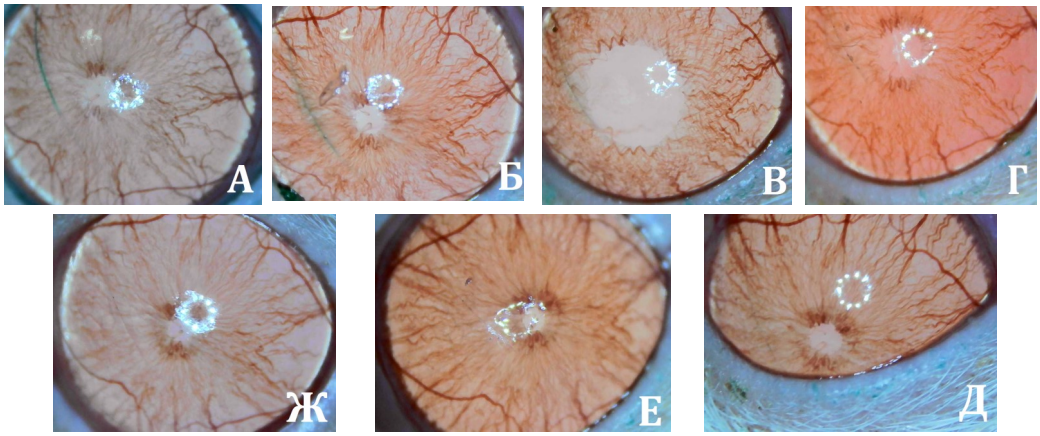


Рисунок 4 – Внешний вид окрашенной лиссаминовым зеленым раны роговицы. А - 0 мин. после окрашивания; Б - через 10 мин. после окрашивания; В - через 20 мин. после окрашивания; Г - через 30 минут после окрашивания; Д - через 60 мин. после окрашивания; Е - через 90 мин. после окрашивания; Ж - через 120 мин. после окрашивания.

При использовании бенгальского розового, раневой дефект остается хорошо прокрашенным в течение 60 минут (Рисунок 2 А, Б, В, Г, Д). К 90 минуте окрашивание становится менее интенсивное (Рисунок 3 Е), а к 120 минуте практически не визуализируется (Рисунок 3 Ж). Также, к 30 минуте на роговице помимо раневого дефекта появляются мелкопятнистые диффузные окрашивания по всей поверхности роговицы (Рисунок 3 Г1).

Окрашивание роговицы с резаной раной лиссаминовым зеленым показало, что краситель сразу хорошо распределяется по линии раневого дефекта и визуализируется в течение 10 минут (Рисунок 4 А, Б). К 20 минуте окраска раневого дефекта ослабевает (Рисунок 4 В). и к 30 минуте

становятся неотчетливым (Рисунок 4 Г). На 60 минуте раневой дефект не визуализируется (Рисунок 4 Д, Е, Ж).

По длительности визуализации раневого дефекта после окрашивания роговицы самый не продолжительный результат был получен при использовании рибофлавина. И составил менее 10 минут. При использовании флуоресцеина и лиссаминового зеленого время четкой визуализации было продолжительным и составило 10 минут. Самый длительный период хорошей визуализации раневого дефекта наблюдался при окрашивании бенгальским розовым (до 60 минут), таблица 1.

Недостатком окрашивания флуоресцеином и рибофлавином является то, что с 10 мин наблюдается диффузное распространение красителя за пределы раневого дефекта. Что уменьшает контрастность окрашенного дефекта.

Сходный недостаток имеет место при использовании бенгальского розового. С 30 минуты появляется мелкопятнистое окрашивание по всей поверхности роговицы, это так же уменьшает контрастность раневого дефекта.

Лиссаминовый зеленый является единственным красителем, который окрашивает исключительно раневой дефект.

Таблица 1 – Сводная таблица по длительности окрашивания резаной раны роговицы после окрашивания

	Время визуализации красителя на резаных ранах роговицы после окрашивания, мин.						
Краситель	0	10	20	30	60	90	120
Флуоресцеин	+	+	±	±	-	-	-
Рибофлавин	+	±	±	±	±	-	-
Бенгальский розовый	+	+	+	+	+	±	-
Лиссаминовый зеленый	+	+	±	±	-	-	-

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

При длительных исследованиях целесообразно использовать бенгальский розовый, который визуализирует раневой дефект в течение 60 минут после окрашивания.

Лиссаминовый зеленый следует использовать в случаях, когда необходим контраст между красителем и роговицей, и/или нижележащими структурами глаза.

Флуоресцеин и рибофлавин достаточно быстро диффузно распространяются в окружающие ткани, а также окрашивают слезную пленку, что может давать ложноположительный результат при диагностике раневого дефекта роговицы.

RETENTION PERIODS OF DIAGNOSTIC DYES ON A CUT CORNEAL WOUND

Minina A.O. * – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of General, Private and Operative Surgery (ORCID: 0000-0002-4176-4053); **Bokarev A.V. –** Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of General, Private and Operative Surgery (ORCID: 0000-0002-4623-5388); **Pilipets E. Ya. –** graduate student of the Department of General, Private and Operative Surgery (ORCID: 0000-0002-0735-523X); **Prudnikova E. V. –** Candidate of Veterinary Sciences, Assistant of the Department of General, Private and Operative Sur-

gery (ORCID: 0000-0002-9866-1231).

Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "St. Petersburg State University of Veterinary Medicine"

*Bluzma-nast@yandex.ru

ABSTRACT

Comparative studies of four main ophthalmic dyes were carried out on their ability, after a single short-term exposure, to stain a corneal incised wound.

12 year–old Wistar rats weighing 180-220 grams were selected for the study. 4 experimental groups of 3 rats each were formed from them. Corneal incision wounds were inflicted on all animals. A 10.0% lidocaine solution was used to anesthetize the cornea. Before applying the cut wound, the animals were injected into anesthesia with the drug "Sevoflurane". The depth of the wound was monitored visually using a microscope at a magnification of 4-6 times. Next, the corneal cut wound was stained with various dyes: animals of group 1 – fluorescein, group 2 – riboflavin, group 3 – bengal pink, group 4 – lissamine green. The exposure of all dyes, before eliminating the excess, was 1 minute.

The degree of corneal staining was evaluated and photodocumented immediately after the elimination of excess dyes and further after 10 min., 20 min., 30 min., 60 min., 90 min., and 120 min. The cornea was visualized and photodocumented using a microscope "jingleszcn 315W" at magnification x 6.0.

For long-term studies, it is advisable to use bengal pink, which visualizes a wound defect within 60 minutes after staining. Lissamine green should be used in cases where a contrast is needed between the dye and the cornea, and/or the underlying structures of the eye. Fluorescein and riboflavin diffuse rapidly enough into the surrounding tissues, and also stain the tear film, which can give a false positive result when diagnosing a wound defect of the cornea.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Плотникова, Е.В. Применение флюоресцеина в клинической практике врача-офтальмолога / Е.В. Плотникова // The EYE Глаз. - 2019. - Т. 21. - № 4. - С. 41-48.

2.Прудникова, Е.В. Офтальмология. Специальные методы исследования у животных. Методические указания / Е.В. Прудникова, А.А. Стекольников, М.А. Нарусбаева, Е.В, Титова // Санкт-Петербург. - СПбГУВМ. - 2021. - 31 с.

3.Стекольников, А.А. Ветеринарная офтальмология: учебник / А.А. Стекольников, Л.Ф. Сотникова. - СПб: Проспект Науки, 2017. - 296 с.

4.Бржеский, В. В. Роговично-коньюнктивальный ксероз (диагностика, клиника, лечение) / В. В. Бржеский, Е. Е. Сомов // СПб.: Левша, 2003. - 119 с.

5.Лоскутов, И.А. Современная оптометрия. Краткое руководство / И.А. Лоскутов, А.В. Корнеева // ГЭОТАР-Медиа. - 2021. - 344 с.

6.An evaluation of the efficacy of fluorescein, rose bengal, lissamine green, and a new dye mixture for ocular surface staining / D.R. Korb, J.P. Herman, V.M. Finnemore [et all.] // Eye Contact Lens. - 2008. - № 34(1). - P. 61-64.

7.Зайнутдинова, Г.Х. Препарат для диагностики повреждений эпителия роговицы / Г.Х. Зайнутдинова, Г.М. Казакбаева, Л.И. Халимова // Медицинский вестник Башкортостана. - 2017. - Т. 12. - № 1 (67). - С 62-65.

8.Петраевский, А.В. Клинико-цитологическая диагностика синдрома «сухого глаза» / А. В. Петраевский, К. С. Тришкин // Вестник ВолгГМУ. - 2012. - № 4(44). - С 52-54.

9.Awisi, G.D. A simple and cost effective method for preparing FL and LG solutions / G.D. Awisi, C.G. Begley, N.J. Daniel // Ocul Surf. - 2018. - № 16(1). - P. 139-145.

10.Khan-Lim, D. Still confused about Rose Bengal? / D. Khan-Lim, M. Berry // Current Eye Research. - 2004. - V.29. - N4-5. - p. 311-317.

11.Мак-Доннелл, К. Лиссаминовый зеленый / К. Мак-Доннелл // Современная оптометрия. - 2010. - № 5(35). - С. 14-16.

12.Comparative performance of lissamine green stains / A. Delaveris, U. Stahl, M. Madigan, I. Jalbert // Cont Lens Anterior

Eye. - 2018. - № 41(1). - P. 23-27.
13.Obtaining Lissamine Green 1% Solution for Clinical Use / M. Stock, D. Salvay, B. Shoss, [et all.] //Cornea. - 2015. - № 34(11). - P. 1523-5.

REFERENCES

1. Plotnikova, E.V. Skin color change in the clinical practice of an ophthalmologist / E.V. Plotnikova // OCULAR eye. - 2019. - Vol. 21. - No. 4. - pp. 41-48.
2. Prudnikova, E.V. Ophthalmology. Special methods of research in animals. Methodical instructions / E.V. Prudnikova, A.A. Stekolnikov, M.A. Narusbaeva, E.V. Titova // Kant-Peter. - SPbGUVM. - 2021. - 31 p.
3. Stekolnikov, A.A. Veterinary ophthalmology: textbook / A.A. Stekolnikov, L.F. Sotnikova. - St. Petersburg: Prospect Nauki, 2017. - 296 p.
4. Brzhesky, V. V. Corneal-conjunctival xerosis (diagnosis, clinic, treatment) / V. V. Brzhesky, E. E. Somov // St. Petersburg: Levsha, 2003. - 119 p.
5. Loskutov, I.A. Modern optometry. Brief guide / I.A. Loskutov, A.V. Korneeva // GEOTAR-Media. - 2021. - 344 p.
6. Evaluation of the effectiveness of fluorescein, bengal rose, lissamine green and a new mixture of dyes for staining the surface of the eyes / D.R. Korb, J.P. Herman, V.M. Finnemore [et al.] // Contact lenses for eyes. - 2008. - № 34(1). - P. 61-64.
7. Zaynutdinova, G.H. Preparation for the diagnosis of corneal epithelial damage / G.H. Zaynutdinova, G.M. Kazakbayeva, L.I. Halimova // Medical Bulletin of Bashkortostan. - 2017. - T. 12. - № 1 (67). - Pp. 62-65.
8. Petraevsky, A.V. Clinical and cytological diagnosis of dry eye syndrome / A.V. Petraevsky, K. S. Trishkin // Vestnik VolgSMU. - 2012. - № 4(44). - From 52-54.
9. Avizi, G.D. A simple and economical way to prepare solutions of FL and LG / G.D. Avizi, K.G. Begley, N.J. Daniel // Ocul Surf. - 2018. - № 16(1). - S. 139-145.
10. Khan-Lim, D. Are you still in doubt about the Bengal rose? / D. Khan-Lim, M. Berry // Modern eye research. - 2004. - Vol.29. - N4-5. - pp. 311-317.
11. McDonnell, K. Lissamine green / K. McDonnell // Modern optometry. - 2010. - № 5(35). - Pp. 14-16.
12. Comparative characteristics of lissamine green dyes / A. Delaveris, W. Stahl, M. Madigan, I. Jalbert // The front part of the lens of the eye. - 2018. - № 41(1). - Pp. 23-27.
13. Obtaining a 1% solution of lissamine green for clinical use / M. Stock, D. Salvey, B. Shoss, [et al.] //The cornea. - 2015. - № 34(11). - Pp. 1523-5.

УДК: 612.127:618.38:618.5-089.888.61-089.5:636.7
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.480

ИЗМЕНЕНИЯ ГАЗОВОГО СОСТАВА ПУПОВИННОЙ КРОВИ НОВОРОЖДЕННЫХ ПОСЛЕ КЕСАРЕВА СЕЧЕНИЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ ПРОТОКОЛОВ ОБЩЕЙ АНЕСТЕЗИИ У СОБАК

Садоведов К.П.[1] – ветеринарный врач; **Нечаев А.Ю.**[2] – д-р ветеринар. наук, доц., зав. кафедрой общей, частной и оперативной хирургии; **Племяшов К.В.**[2] – д-р ветеринар. наук, проф., член-корреспондент РАН.

[1] Ветеринарная клиника «Алисавет»
[2] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*netschajew@yandex.ru

Ключевые слова: *анестезия, пропофол, изофлуран, севофлуран, кесарево сечение, пуповинная кровь, газы крови*
Key words: *anesthesia, propofol, isoflurane, sevoflurane, caesarean section, cord blood, blood gases*

Поступила: 10.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Кесарево сечение, являясь одной из распространенных операций в ветеринарной хирургии, требует особого анестезиологического протокола, обеспечивающего адекватную анестезию у матери и оказывающего минимальное влияние на щенков. Целью исследования была, основанная на анализе газов пуповинной крови, оценка влияния различных неингаляционных и ингаляционных анестетиков на новорожденных щенков при проведении кесарева сечения. Были сформированы 3 группы подопытных животных, которым применялся один из исследуемых анестезиологических протоколов. В первой подопытной группе для поддержания общей анестезии использовали пропофол в дозе 4-6 мг/кг. Во второй и третьей подопытных группах использовали ингаляционные галогенсодержащие анестетики. Во второй группе использовали изофлуран 0,5 – 2,0 об%, а в третьей севофлуран 1,0 – 2,0 об%. При использовании всех исследуемых анестетиков у щенков был выявлен кислотно-щелочной дисбаланс в виде умеренного ацидоза, однако в группах, где использовали галогенсодержащие анестетики ацидоз был менее выражен. Использование ингаляционных галогенсодержащих анестетиков в меньшей степени оказывало угнетающее влияние на щенков по сравнению с неингаляционными. Из ингаляционных анестетиков достоверных различий влияния изофлурана и севофлурана не выявлено.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Кесарево сечение, являясь одной из распространенных операций в ветеринарной хирургии, требует особого анестезиологического протокола, обеспечивающего адекватную анестезию у матери и оказывающего минимальное влияние на щенков [1,5]. На практике это частично достижимо при использовании многокомпонентной анестезии современными анестетиками, однако, свести к минимуму влияние анестетиков на плоды является сложной задачей из-за их беспрепятственного прохождения через плацентарный барьер [6]. Уровень смертности щенков, доставленных методом кесарева сечения, остается на высоком уровне, достигая 20% [7,8]. В ветеринарной медицине клиническая оценка новорожденных животных и определение терапевтического подхода сопряжены со значительными трудностями из-за их размеров и физиологии. Перспективным прогностическим показателем выживаемости щенков после оперативного родоразрешения некоторые исследователи считают анализ газов пуповинной крови [2,8]. В период внутриутробного развития кислород и питательные вещества плоду доставляются через плацентарный кровоток, а углекислый газ и продукты жизнедеятельности через него отводятся обратно в кровоток матери. Анализ газов пуповинной крови является доступным и неинвазивным методом, который позволяет достоверно судить об асфиксии и депрессии плода после родоразрешения. Целью исследования была, основанная на анализе газов пуповинной крови, оценка влияния различных неингаляционных и ингаляционных анестетиков на новорожденных щенков при проведении кесарева сечения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования были выполнены при проведении кесарева сечения 60 беременным сукам в возрасте от 2 до 6 лет, со средней живой массой 22±4,6 кг. При ведении акушерского приема в ветеринарной клинике отбирались животные для проведения кесарева сечения. После осмотра и подготовки проводили оперативное родоразрешение продолжительностью от 30 до 40 мин. Были сформированы 3 группы подопытных животных, к которым применялся один из исследуемых анестезиологических протоколов. Для премедикации во всех группах использовали внутримышечную инъекцию атропина (0,02-0,04 мг/кг), затем устанавливали внутривенный катетер в латеральную подкожную вену грудной конечности. Все животные перед оперативным вмешательством подвергались пятиминутной преоксигенации 100% кислородом через маску и инфузионной терапии раствором Рингера 5 мл/кг/ч. В первой подопытной группе (n=20) в качестве индуцирующего агента и для поддержания общей анестезии использовали неингаляционный анестетик Пропофол в дозе 4-6 мг/кг. Во второй (n=20) и третьей (n=20) подопытных группах для индукции и поддержания анестезии использовали ингаляционные галогенсодержащие анестетики. Во второй группе использовали Изофлуран 0,5 – 2,0 об%, а в третьей Севофлуран 1,0 – 2,0 об%. В качестве анальгезирующего средства использовали лидокаин 2%, вводя его в эпидуральное пространство в дозировке 2 мг/кг. Непосредственно после извлечения каждого плода проводили двойное пережатие пуповины до отслоения плаценты. Первый зажим располагали в одном сантиметре от туловища плода, а второй как можно ближе к плаценте. Затем, как показано на рисунке 1, из пережатой пуповины производили аспирацию смешанной крови для дальнейшего исследования. Для определения газового и кислотно-основного состава крови использовали портативный газоанализатор I-STAT, для которого использовали одноразовые картриджи CG4+ (95мкл). Всего в исследовании при оперативном родоразрешении было получено 429 щенков, из которых у 86 в достаточном количестве получилось взять пуповинную кровь для анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Как видно на рисунке 2, сразу после рождения щенки во всех группах имели

тенденцию к ацидемии. Наиболее значимое отклонение от нормы было в группе, где в качестве основного анестетика использовали пропофол, там показатель pH составлял 7,25±0,02. В группах, где использовали галогенсодержащие анестетики изофлуран и севофлуран, значение pH составляло 7,31±0,01 и 7,33±0,02 соответственно. Это позволяет предположить, что в группе, где использовали пропофол, у плодов возникала гипоксия, и метаболизм протекал в анаэробных условиях, что спровоцировало накопление молочной кислоты. Следовательно, выявленный неонатальный ацидоз был следствием нарушения доставки насыщенной кислородом крови через плаценту.

Парциальное напряжение углекислого газа в пуповинной крови, представленное на рисунке 3, коррелировало с показателем pH. В группе, где использовали пропофол, этот показатель был наивысшим и составлял 59,3±9,4 мм рт.ст. В группах, где в качестве основного анестетика использовали изофлуран и севофлуран, этот показатель составлял 53,4±11,3 и 51,9±10,8 мм рт.ст. соответственно. Данная тенденция подтверждает наличие умеренного неонатального ацидоза в группе, где в качестве основного анестетика использовали пропофол.



Рисунок – 1. Процедура взятия пуповинной крови.

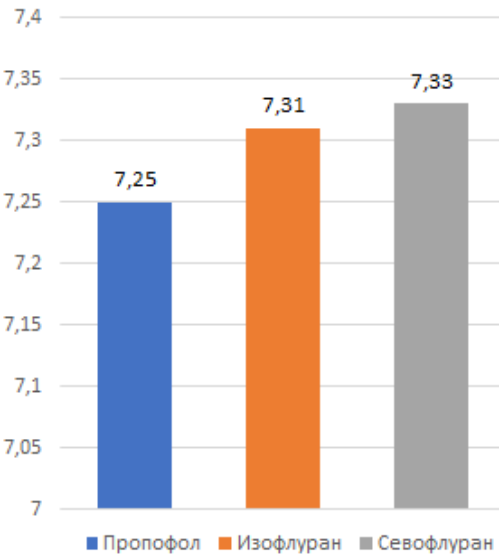


Рисунок - 2
Значение pH в пуповинной крови щенков

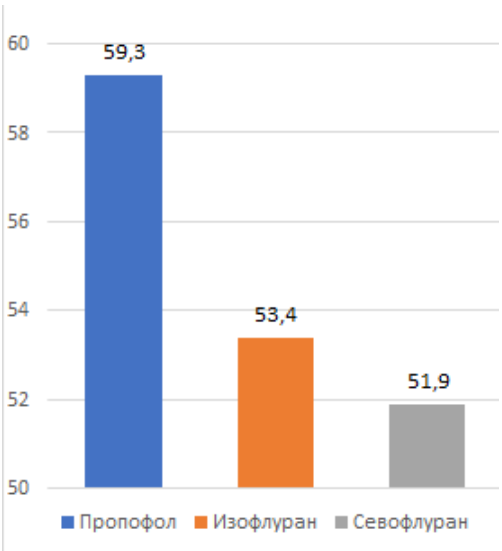


Рисунок - 3
Значение PCO_2, мм рт.ст. в пуповинной крови щенков

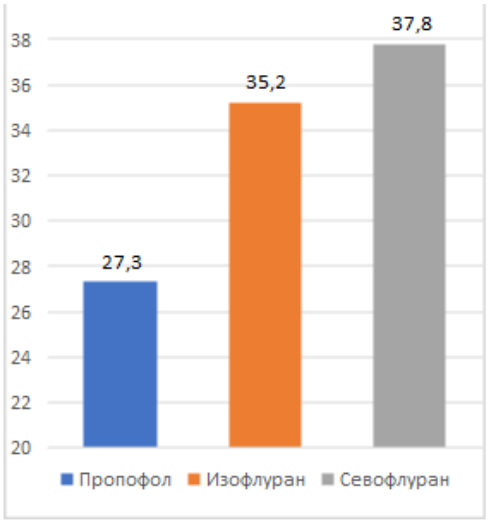


Рисунок - 4
Значение PO_2
мм рт.ст. в пуповинной крови щенков

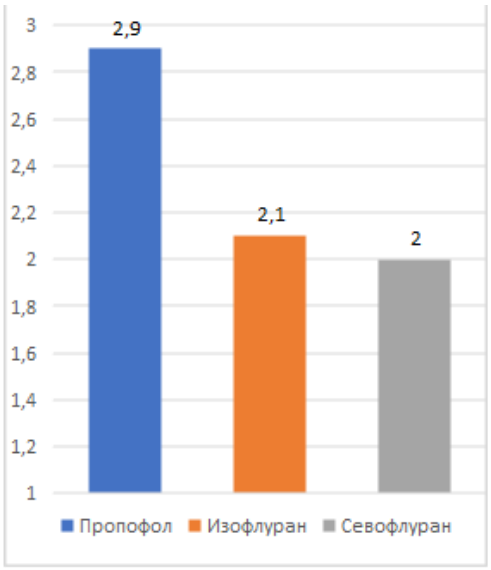


Рисунок - 5
Значение Лактата
ммоль/л в пуповинной крови щенков

Значения парциального напряжение кислорода в пуповинной крови представлено на рисунке 4. Наименьшее значение этого показателя было зарегистрировано в группе, где в качестве основного анестетика использовали пропофол, и составило 27,9±5,8 мм рт.ст. В группе, где анестезию обеспечивали изофлураном, парциальное напряжение кислорода в пуповинной крови составляло 35,2±4,7 мм рт.ст. Наибольшее значение этого показателя выявили в группе, где использовали севофлуран, там это значение достигало 37,8±7,2 мм рт.ст. Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод, что при использовании галогенсодержащих анестетиков плоды испытывают меньшею гипоксию по сравнению с неингаляционным анестетиком пропофолом.

Гиперлактатемия развивается при гипоксии плода, когда при недостатке кислорода метаболизм протекает в анаэробных условиях и происходит выработка и накопление молочной кислоты. В исследованиях различными авторами показана роль измерения концентрации лактата в пуповинной крови как хорошего прогностического фактора неонатального исхода [3,4]. При анализе концентрации лактата в пуповинной крови, представленной на рисунке 5, максимальное количество было в группе, где использовали пропофол, это показатель составлял 2,9±0,9 ммоль/л. В группе, где использовали изофлуран и севофлуран, концентрация лактата была меньшей и составляла 2,1±0,8 и 2,0±1,0 ммоль/л соответственно. Следовательно, при анестезии пропофолом плоды испытывают гипоксию более сильную, чем при анестезии галогенсодержащими анестетиками.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Анализ газов пуповинной крови, являясь неинвазивной процедурой, позволяет оценить влияние на новорожденных щенков средств общей анестезии, наиболее часто применяемых при проведении кесарева сечения. Анализируя полученные результаты, мы пришли к выводу, что исследуемые протоколы анестезии при проведении кесарева сечения у сук оказывают различное влияние на щенков, полученных в ходе оперативного родоразрешения. При использовании всех исследу-

емых анестетиков у щенков был выявлен кислотно-щелочной дисбаланс в виде умеренного ацидоза, однако в группах, где использовали галогенсодержащие анестетики, ацидоз был менее выражен. Во всех группах, судя по сдержанному уровню лактата и повышению парциального давления углекислого газа, а также понижению парциального давления кислорода, можно предположить, что ацидоз имел смешанное происхождение, т.е. состоял из респираторного и метаболического компонентов. Использование ингаляционных галогенсодержащих анестетиков в меньшей степени оказывало угнетающее влияние на щенков по сравнению с неингаляционными. Из ингаляционных анестетиков достоверных различий влияния изофлурана и севофлурана не выявлено.

CHANGES IN THE GAS COMPOSITION OF UMBILICAL CORD BLOOD OF NEWBORNS AFTER CESAREAN SECTION USING VARIOUS PROTOCOLS OF GENERAL ANESTHESIA IN DOGS

Sadovedov K.P.[1] – veterinarian; **Nechaev A.J.**[2] – Doctor of Veterinary Sciences, Head of the Department of General, Private and Operative Surgery; **Plemyashov K.V.**[2] – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences.

[1]Veterinary clinic "Alisavet"

[2]St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*netschajew@yandex.ru

ABSTRACT

Cesarean section, being one of the most common operations in veterinary surgery, requires a special anesthetic protocol that provides adequate anesthesia for the mother and has minimal effect on puppies. The aim of the study was to evaluate the effect of various non-inhalation and inhaled anesthetics on newborn puppies during cesarean section, based on the analysis of cord blood gases. 3 groups of experimental animals were formed, which used one of the studied anesthetic protocols. In the first experimental group, propofol at a dose of 4-6 mg/kg was used to maintain general anesthesia. Inhaled halogen-containing anesthetics were used in the second and third experimental groups. Isoflurane 0.5 – 2.0 vol% was used in the second group, and sevoflurane 1.0 – 2.0 vol% was used in the third group. When using all the studied anesthetics, an acid-base imbalance in the form of moderate acidosis was detected in the puppies after delivery, however, acidosis was less pronounced in the groups where halogen-containing anesthetics were used. The use of inhaled halogen-containing anesthetics had a lesser effect on puppies compared to non-inhalation ones. There were no significant differences in the effect of isoflurane and sevoflurane from inhaled anesthetics.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Шпак, А. Н. Анестезиологическое обеспечение при кесаревом сечении у собак / А. Н. Шпак // Ветеринария. – 2012. – № 5. – С. 46-48.

2.Antończyk, A., Ochota, M., & Niżański, W. (2021). Umbilical Cord Blood Gas Parameters and Apgar Scoring in Assessment of New-Born Dogs Delivered by Cesarean Section. Animals, 11(3), 685. doi:10.3390/ani11030685

3.Castagnetti, C., Cunto, M., Bini, C., Mariella, J., Capolongo, S., & Zambelli, D. (2017). Time-dependent changes and prognostic value of lactatemia during the first 24 h of life in brachycephalic newborn dogs. Theriogenology, 94, 100–104. doi: 10.1016/j.theriogenology.2017

4.Groppetti, D., Pecile, A., Del Carro, A. P., Copley, K., Minero, M., & Cremonesi, F. (2010). Evaluation of newborn canine viability by means of umbilical vein lactate measurement, apgar score and uterine tocodynamometry. Theriogenology, 74(7), 1187–1196. doi: 10.1016/j.theriogenology.2010

5.Ryan, S.D. & Wagner, A.E. (2006). Cesarean section in dogs: Anesthetic management. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian. 28. 44-45.

6.Wiebe, V. J., & Howard, J. P. (2009). Pharmacologic Advances in Canine and Feline Reproduction. Topics in Companion

Animal Medicine, 24(2), 71–99. doi: 10.1053/j.tcam.2008.12.004
7.Mila, H., Grellet, A., Delebarre, M., Mariani, C., Feugier, A., & Chastant-Maillard, S. (2017). Monitoring of the newborn dog and prediction of neonatal mortality. Preventive Veterinary Medicine, 143, 11–20. doi: 10.1016/j.prevetmed.2017.05.0
8.Silva, L., Lúcio, C., Veiga, G., Rodrigues, J., & Vannucchi, C. (2009). Neonatal Clinical Evaluation, Blood Gas and Radiographic Assessment After Normal Birth, Vaginal Dystocia or Caesarean Section in Dogs. Reproduction in Domestic Animals, 44, 160–163. doi:10.1111/j.1439-0531.2009. 01392.x

REFERENCES

1.Shpak, A. N. Anesthesiological support during cesarean section in dogs / A. N. Shpak // Veterinary medicine. - 2012. – No. 5. – pp. 46-48.
2.Antończyk, A., Ochota, M., & Niżański, W. (2021). Umbilical Cord Blood Gas Parameters and Apgar Scoring in Assessment of New-Born Dogs Delivered by Cesarean Section. Animals, 11(3), 685. doi:10.3390/ani11030685
3.Castagnetti, C., Cunto, M., Bini, C., Mariella, J., Capolongo, S., & Zambelli, D. (2017). Time-dependent changes and prognostic value of lactatemia during the first 24 h of life in brachycephalic newborn dogs. Theriogenology, 94, 100–104. doi: 10.1016/j.theriogenology.2017
4.Groppetti, D., Pecile, A., Del Carro, A. P., Copley, K., Minero, M., & Cremonesi, F. (2010). Evaluation of newborn canine viability by means of umbilical vein lactate measurement, apgar score and uterine tocodynamometry. Theriogenology, 74(7), 1187–1196. doi: 10.1016/j.theriogenology.2010
5.Ryan, S.D. & Wagner, A.E. (2006). Cesarean section in dogs: Anesthetic management. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian. 28. 44-45.
6.Wiebe, V. J., & Howard, J. P. (2009). Pharmacologic Advances in Canine and Feline Reproduction. Topics in Companion Animal Medicine, 24(2), 71–99. doi: 10.1053/j.tcam.2008.12.004
7.Mila, H., Grellet, A., Delebarre, M., Mariani, C., Feugier, A., & Chastant-Maillard, S. (2017). Monitoring of the newborn dog and prediction of neonatal mortality. Preventive Veterinary Medicine, 143, 11–20. doi: 10.1016/j.prevetmed.2017.05.0
8.Silva, L., Lúcio, C., Veiga, G., Rodrigues, J., & Vannucchi, C. (2009). Neonatal Clinical Evaluation, Blood Gas and Radiographic Assessment After Normal Birth, Vaginal Dystocia or Caesarean Section in Dogs. Reproduction in Domestic Animals, 44, 160–163. doi:10.1111/j.1439-0531.2009. 01392.x

УДК: 617.7:599.742.93
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.486

СУБКОНЪЮНКТИВАЛЬНОЕ ВВЕДЕНИЕ «АКТИЛИЗЕ» ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НЕБОЛЬШИХ КРОВОИЗЛИЯНИЙ В ПЕРЕДНЕЙ КАМЕРЕ ГЛАЗА ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ КОШЕК

Аргунов М.Н. * – д-р. ветеринар. наук, проф. кафедры терапии и фармакологии

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I»

*argunov.muaed123@yandex.ru

Ключевые слова: *артериальная гипертензия, фибринолитик, Актилизе, увеиты, ветеринарная офтальмология, синехии, кровоизлияния, кошки.*

Keywords: *arterial hypertension, fibrinolytic, actilize, uveitis, veterinary ophthalmology, synechiae, hemorrhages, cats.*

Поступила: 10.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

К наиболее частым причинам артериальной гипертензии у кошек относят болезни почек (хроническая болезнь почек, хронический интерстициальный нефрит, амилоидоз, гломерулонефрит, пиелонефрит, поликистоз почек, почечная дисплазия, а также острая почечная недостаточность), хроническую сердечную недостаточность, эндокринопатии (сахарный диабет, гипертиреоз и т.д.), ожирение (гиперлипидемия), хроническую анемию, полицитемию, лихорадку, артериовенозную фистулу, применение пищи с повышенным содержанием соли, идиопатические факторы. Цель – внедрить в ветеринарную клиническую практику эффективный фибринолитик «Актилизе»; установить его эффективность в лизисе небольших кровоизлияний в передней камере глаза при артериальной гипертензии кошек, а также профилактике и лечении синехий; отработать субконъюнктивальный способ введения «Актилизе» в месте входа длинных цилиарных артерий. Основой методологии исследований стали научно обоснованная постановка проблемы, методы и средства лизиса небольших кровяных сгустков в передней камере глаза, профилактика и лечение синехий у кошек с артериальной гипертензией, обеспечивающие максимальную эффективность за счет совершенствования существующих протоколов лечения, а также опробирование «Актилизе» и субконъюнктивального способа его введения в области входа длинных цилиарных артерий для лечения небольших кровоизлияний в передней камере глаза при артериальной гипертензии кошек в ветеринарной офтальмологии. Внедрено в ветеринарную клиническую практику эффективный фибринолитик «Актилизе»; установить его эффективность в лизисе небольших кровяных сгустков в передней камере глаза при артериальной гипертензии кошек, профилактике и лечении синехий; отработать малоинвазивный субконъюнктивальный способ введения «Актилизе» в месте входа длинных цилиарных артерий. В случае обширной гифемы при артериальной гипертензии кошек с последующим формированием крупных кровяных сгустков нами рекомендован интракамерный способ введения «Актилизе» в переднюю камеру глаза.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Системная артериальная гипертензия может возникать у кошек по целому ряду причин. К наиболее частым причинам артериальной гипертензии у кошек относят болезни почек (хроническая болезнь почек, хронический интерстициальный нефрит, амилоидоз, гломерулонефрит, пиелонефрит, поликистоз почек, почечная дисплазия, а также острая почечная недостаточность), хроническую сердечную недостаточность, эндокринопатии (сахарный диабет, гипертиреоз и т. д.), ожирение (гиперлипидемия), хроническую анемию, полицитемию, лихорадку, артериовенозную фистулу, применение пищи с повышенным содержанием соли, идиопатические факторы [3]. К наиболее частым клиническим признакам артериальной гипертензии передней области глаза кошек относятся мидриаз, небольшие кровоизлияния в передней камере глаза или выраженное заполнение передней камеры глаза кровью (гифема), передний увеит [7]. К наиболее частым клиническим признакам артериальной гипертензии заднего отрезка глаза кошек являются гемофтальм (кровоизлияние в стекловидное тело) и признаки гипертонической ретинопатии, которые включают отек сетчатки и диска зрительного нерва, отслойки сетчатки; патологическую извилистость артериол, утолщение их стенки, а также уменьшение их просвета (очаговая констрикция артериол); расхождение артериол под прямым углом; захождение венул на область диска зрительного нерва; преретинальные, интраретинальные и субретинальные кровоизлияния; вторичная дегенерация сетчатки (результат ишемии и/или воспаления); глиоз [8, 9].

Для выявления артериальной гипертензии необходимо произвести не менее 3 -5 замеров артериального давления у кошки при условии соблюдения всех правил. Полученные цифры нельзя принимать за абсолют в отрыве от клинической картины.

Референсные нормы систолического давления:

– До 140 мм. рт. ст. – норма

– 140-159 мм. рт. ст. – «серая» зона

– 160-179 мм. рт. ст. – умеренная артериальная гипертензия

– Свыше 180 мм. рт. ст. – выраженная артериальная гипертензия

У кошек старше 9 лет может наблюдаться подъем САД на 1-2 мм. рт. ст. в год (ACVIM 2018, Veterinary Blood Pressure Society, IRIS).

Референсные нормы диастолического давления:

– До 100 мм. рт. ст. – норма (клиническая значимость у животных неоднозначна)

При выявлении крови в передней камере глаза необходимо исключить инфекционные (вирусные, бактериальные, протозойные, грибковые, водорослевые), паразитарные, травматические, неопластические, метаболические, иммуноопосредованные, токсические, рефлекторные и идиопатические воспаления передней и задней сосудистой оболочки [8].

В случае выявления небольших кровоизлияний в передней камере глаза при артериальной гипертензии кошек крайне важно выявить первопричину и остановить кровотечение, снять воспаление, стабилизировать внутриглазное давление (ВГД) и убрать болезненность глаза. Далее после остановки кровотечения и формирования в передней камере глаза кровяного сгустка требуется как можно быстрее обеспечить его лизис для предотвращения таких нежелательных осложнений как глаукома, синехии, катаракта и т. д. [1, 6]. Для остановки внутриглазного кровотечения нами наиболее часто применяются препараты транексамовой кислоты (Транексам и т. д.) в дозе 10-15 мг на кг массы тела внутривенно или внутримышечно каждые 8 часов в первые сутки, обычно курсом до 5 дней. Для снятия воспаления со стороны передней и задней сосудистой оболочки для лечения небольших кровоизлияний в передней камере глаза при артериальной гипертензии кошек максимально эффективен преднизолон, однако в большинстве случаев его применение ограничено из-за того, что

большинство случаев артериальной гипертензии у кошек возникает на фоне хронической болезни почек, в случае которой применение преднизолона может привести к тяжелым негативным последствиям. Поэтому для кошек с артериальной гипертензией для снятия воспаления наиболее часто используются системные нестероидные противовоспалительные средства (мелоксикам или робенококсиб по инструкции). В качестве местных противовоспалительных препаратов для лечения небольших кровоизлияний в передней камере глаза при артериальной гипертензии кошек лучше всего применять кортикостероиды и нестероидные противовоспалительные препараты. Для профилактики и лечения синехий используются местные мидриатики и иридоциклоплегики под строгим контролем внутриглазного давления. В случае развития офтальмологической гипертензии рекомендовано применение местных ингибиторов карбоангидразы и бета блокаторов под строгим контролем внутриглазного давления. В качестве препарата первого выбора для контроля артериальной гипертензии у кошек используется амлодипин (блокатор кальциевых каналов).

После остановки кровотечения и назначения системной и местной противовоспалительной и мидриатической терапии требуется обязательное добавление в протокол лечения фибринолитических препаратов для лизиса кровяных сгустков в передней камере глаза, профилактики и лечения синехий [2, 4, 5,10, 11].

По нашему мнению, наиболее эффективным фибринолитиком для лечения кровоизлияний в передней камере глаза при артериальной гипертензии кошек, профилактике и устранении синехий является «Актилизе». Этот препарат можно вводить как субконъюнктивально для лечения небольших кровоизлияний в передней камере глаза, так и интракамерно в переднюю камеру глаза для лизиса кровяных сгустков при обширной гифеме. Субконъюнктивальный способ введения «Актилизе» является малоинвазивным и обычно применяется при увеитах легкой и средней степени тяжести с образованием небольших кровоизлияний в передней камере глаза. Интракамерный способ введения «Актилизе» обычно применяется при увеитах тяжелой степени тяжести с образованием обширной гифемы.

Учитывая вышесказанное, мы поставили цель – внедрить в ветеринарную клиническую практику эффективный фибринолитик «Актилизе»; установить его эффективность в лизисе небольших кровоизлияний в передней камере глаза при артериальной гипертензии кошек, а также профилактике и лечении синехий; отработать субконъюнктивальный способ введения «Актилизе» в месте входа длинных цилиарных артерий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Работа выполнена на кафедре терапии и фармакологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I». Экспериментальная часть выполнялась на базе ветеринарной клиники «Кот М@троскин» и Воронежского ветеринарного госпиталя № 1. Результаты наших исследований были апробированы на кошках, принадлежавших владельцам и заводчикам из Воронежской и других областей. В опыте участвовало 30 животных. Обоснование методологических подходов проведено с учетом актуальности, цели и задач исследований, анализа данных отечественной и зарубежной литературы по теме и результатов собственных исследований. Предметы исследований: клинический статус домашних кошек с небольшими кровоизлияниями в передней камере глаза при артериальной гипертензии, фибринолитическая активность «Актилизе» и оценка их экономической и терапевтической эффективности в лизисе небольших кровяных сгустков в передней камере глаза, при профилактике и лечении синехий. Основой методологии исследований стали научно обоснованная постановка проблемы, методы и средства лизиса небольших кровяных сгустков в

передней камере глаза, профилактика и лечение синехий у кошек с артериальной гипертензией, обеспечивающие максимальную эффективность за счет совершенствования существующих протоколов лечения, а также апробирование «Актилизе» и субконъюнктивального способа его введения в области входа длинных цилиарных артерий для лечения небольших кровоизлияний в передней камере глаза при артериальной гипертензии кошек в ветеринарной офтальмологии.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Для лизиса небольших кровоизлияний в передней камере глаза при артериальной гипертензии, профилактики и лечения синехий в практике гуманной медицины разработаны различные схемы. В отечественной и зарубежной литературе существует большое количество информации по медикаментозному лизису небольших кровяных сгустков в передней камере глаза и медикаментозной профилактике и лечению синехий на фоне артериальной гипертензии. Однако в ветеринарной практике эта тема мало разработана. Поэтому перед нами встал вопрос о внедрении в практику ветеринарного врача эффективного фибринолитика «Актилизе» для лечения кровоизлияний в передней камере глаза при артериальной гипертензии у кошек, а также субконъюнктивальный способ его введения для лизиса кровяных сгустков, профилактики и лечения синехий.

Основываясь на данных литературы и проведенных опытов, мы опробировали «Актилизе» и способ его субконъюнктивального введения в месте входа длинных цилиарных артерий кошкам с артериальной гипертензией ориентировочно на 3-5 день после купирования кровотечения на фоне противовоспалительной и мидриатической терапии.

Фибринолитик «Актилизе» (альтеплаза; тканевой активатор плазминогена (tPA)) вводился в концентрации 50 мкг (0,05 мл) субконъюнктивально в области входа длинных цилиарных артерий для обеспечения наилучшего доступа препарата к передней сосудистой оболочке глаза инсулиновым шприцом после предварительного обеззараживания глазной поверхности раствором бетадина 1:50 и предварительного местного обезболивания глаза раствором 0,4% оксибупрокаина.

Препарат показал выраженный терапевтический эффект в лизисе кровоизлияний в передней камере глаза при артериальной гипертензии кошек. Он не обладает эмбриотоксическим, тератогенным, раздражающим и токсическим действиями, что позволяет рекомендовать использовать его для животных с различной массой тела и на разных этапах онтогенеза, включая самок в период беременности.

Субконъюнктивальное введение «Актилизе» для лечения небольших кровоизлияний в передней камере глаза при артериальной гипертензии кошек позволяет эффективно лизировать кровяные сгустки, профилактирует и лечит поствоспалительные синехии за счет превосходного фибринолитического эффекта, а малоинвазивный субконъюнктивальный способ введения препарата обеспечивает доставку лекарственного вещества непосредственно к очагу воспаления.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, благодаря поставленным опытам нам удалось внедрить в ветеринарную клиническую практику эффективный фибринолитик «Актилизе»; установить его эффективность в лизисе небольших кровяных сгустков в передней камере глаза при артериальной гипертензии кошек, профилактике и лечении синехий; отработать малоинвазивный субконъюнктивальный способ введения «Актилизе» в месте входа длинных цилиарных артерий. В случае обширной гифемы при артериальной гипертензии кошек с последующим формированием крупных кровяных сгустков нами рекомендован интракамерный способ введения «Актилизе» в переднюю камеру глаза.

SUBCONJUNCTIVAL ADMINISTRATION OF "ACTILIZE" FOR THE TREATMENT OF SMALL HEMORRHAGES IN THE ANTERIOR CHAMBER OF THE EYE WITH ARTERIAL HYPERTENSION OF CATS

Argunov M.N. * – Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Therapy and Pharmacology

Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter I

*argunov.muaed123@yandex.ru

ABSTRACT

Systemic arterial hypertension can occur in cats for a number of reasons. The most common causes of hypertension in cats include kidney disease (chronic kidney disease, chronic interstitial nephritis, amyloidosis, glomerulonephritis, pyelonephritis, polycystic kidney disease, renal dysplasia, as well as acute renal failure), chronic heart failure, endocrinopathy (diabetes mellitus, hyperthyroidism, etc.), obesity (hyperlipidemia), chronic anemia, polycythemia, fever, arteriovenous fistula, the use of food with a high salt content, idiopathic factors. Taking into account the above, we set a goal – to introduce into veterinary clinical practice an effective fibrinolytic "Actilize"; to establish its effectiveness in lysis of small hemorrhages in the anterior chamber of the eye with arterial hypertension of cats, as well as prevention and treatment of synechiae; to work out a subconjunctival method of administration of "Actilize" at the entrance of long ciliary arteries. The basis of the research methodology was a scientifically based formulation of the problem, methods and means of lysis of small blood clots in the anterior chamber of the eye, prevention and treatment of synechiae in cats with arterial hypertension, ensuring maximum effectiveness by improving existing treatment protocols, as well as testing "Actilize" and the subconjunctival method of its introduction in the area of the entrance of long ciliary arteries for treatment small hemorrhages in the anterior chamber of the eye with arterial hypertension of cats in veterinary ophthalmology. Thanks to the experiments, we were able to introduce into veterinary clinical practice an effective fibrinolytic "Actilize"; to establish its effectiveness in lysis of small blood clots in the anterior chamber of the eye with arterial hypertension of cats, prevention and treatment of synechiae; to work out a minimally invasive subconjunctival method of administration of "Actilize" at the entrance of long ciliary arteries. In the case of extensive hyphema with arterial hypertension of cats, followed by the formation of large blood clots, we recommended an intracameral method of introducing "Actilize" into the anterior chamber of the eye.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Кирк, Р. Современный курс ветеринарной медицины Кирка / Р. Кирк, М. П. Нэссис // - М.: ООО «Аквариум-Принт», 2005. – 1376 с.

2.Риис, Р. К. Офтальмология мелких домашних животных / Р. К. Риис - М.: «Аквариум-Принт». 2006. - 280с.

3.Сароян, С. В. Диагностика, клинико-морфологическая характеристика и лечение экзогенного и эндогенного увеита у собак: автореф. дис. … д-ра ветеринарных наук. Моск. гос. акад. ветеринарн. медицины, Москва, 2004.

4.Способ лечения передних увеитов животных и птиц легкой и средней степени тяжести. Патент RU 2 707 279 C1 Авторы: Соломахина Любовь Анатольевна, Аргунов Муаед Нурдинович; Подача 2018.11.26; Публикация 2019.11.26. Начало действия 2018.11.26.

5.Способ лечения передних увеитов животных и птиц тяжелой степени тяжести. Патент RU 2 706 338 C1 Авторы: Соломахина Любовь Анатольевна, Аргунов Муаед Нурдинович; Подача 2018-11-26; Публикация 2019-11-18.

6.Стекольников, А. А. Ветеринарная офтальмология: учебник/ А. А. Стекольников, Л. Ф. Сотникова. - СПб: Проспект Науки, 2017. - 288 с.

7.Crispin, S. M. Uveitis in the dog and cat / S. M. Crispin // Journal of Small Animal Practice. – 1988. - № 29(7). – P. 429–447.

8.Kirk, N. Essentials of Veterinary ophthalmology / N. Kirk. – N. Y.: John Wiley & Sons Inc, 2014. – 720 P.

9.Maggs, D. J. Slatters's fundamentals of veterinary ophthalmology/ D. J. Maggs, P. E. Miller, R. Ofri. - St. -Louis: Elsevier, 2017. - 584 p.
10.Stades, F. C. Ophthalmology for the Veterinary Practitioner / F. C. Stades, M. Wyman, M. H. Boevé, et al. – Hannover: Schlutersche, 2007. – P. 204
11. Беспалова Т. О., Артюшина Ю. Ю., Олейник В. В., Ротанов Д. А., Пудовкина Т. Н., научный консультант Шилкин А. Г. Опыт применения фибринолитических ферментов в ветеринарной офтальмологии. Центр ветеринарной офтальмологии доктора Шилкина А. Г.; Москва, 2008. Источник: материалы 16-Московского международного ветеринарного конгресса стр. 146-148.

REFERENCES

1. Kirk, R. Kirk's modern course of veterinary medicine / R. Kirk, M. P. Nessis // - M.: Aquarium-Print LLC, 2005. - 1376 p.
2. Riis, R. K. Ophthalmology of small domestic animals / R. K. Riis - M.: "Aquarium-Print". 2006. - 280s.
3. Saroyan, SV Diagnosis, clinical and morphological characteristics and treatment of exogenous and endogenous uveitis in dogs: author. dis. ... Doctor of Veterinary Sciences. Moscow state acad. veterinary medicine, Moscow, 2004.
4. Method for the treatment of mild to moderate anterior uveitis in animals and birds. Patent RU 2 707 279 C1 Authors: Solomakhina Lyubov Anatolyevna, Argunov Muayed Nurdinovich; Submission 2018.11.26; Publication 2019.11.26. Start of action 2018.11.26.
5. A method for the treatment of severe anterior uveitis in animals and birds. Patent RU 2 706 338 C1 Authors: Solomakhina Lyubov Anatolyevna, Argunov Muaed Nurdinovich; Submission 2018-11-26; Publication 2019-11-18.
6. Stekolnikov, A. A. Veterinary ophthalmology: textbook / A. A. Stekolnikov, L. F. Sotnikova. - St. Petersburg: Prospekt Nauki, 2017. - 288 p.
7. Crispin, S. M. Uveitis in the dog and cat / S. M. Crispin // Journal of Small Animal Practice. - 1988. - No. 29(7). - R. 429-447.
8. Kirk, N. Essentials of Veterinary ophthalmology / N. Kirk. - N. Y.: John Wiley & Sons Inc, 2014. - 720 R.
9. Maggs, D. J. Slatters's fundamentals of veterinary ophthalmology/ D. J. Maggs, P. E. Miller, R. Ofri. -St. - Louis: Elsevier, 2017. - 584 p.
10. Stades, F. C. Ophthalmology for the Veterinary Practitioner / F. C. Stades, M. Wyman, M. H. Boevé, et al. - Hannover: Schlutersche, 2007. - P. 204.
11. Bespalova T. O., Artyushina Yu. Yu., Oleinik V. V., Rotanov D. A., Pudovkina T. N., scientific consultant Shilkin A. G. Experience in the use of fibrinolytic enzymes in veterinary ophthalmology. Center for Veterinary Ophthalmology Dr. A. Shilkin; Moscow, 2008. Source: Materials of the 16th Moscow International Veterinary Congress, pp. 146-148.

НЕЗАРАЗНЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК: 619:636.2.034
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.4.492

МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ И БИОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ КРОВИ МОЛОЧНЫХ КОРОВ, ПОРАЖЕННЫХ ТРАВМАТИЧЕСКИМ РЕТИКУЛИТОМ

Попова Е.Л. – асп. каф. внутренних незаразных болезней, хирургии и акушерства (ORCID 0000-0001-9774-3799); **Рыжаков А.В.** – д-р ветеринар. наук, проф. каф. внутренних незаразных болезней, хирургии и акушерства (ORCID 0000-0003-0991-0783); **Ошуркова Ю.Л. *** – канд. биол. наук, доц. каф. внутренних незаразных болезней, хирургии и акушерства (ORCID 0000-0002-8376-0296); **Фомина Л.Л.** – канд. биол. наук, доц. каф. внутренних незаразных болезней, хирургии и акушерства (ORCID 0000-0001-6850-6663).

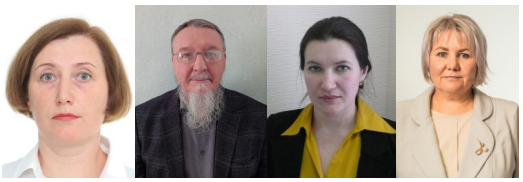
ФГБОУ ВО «Вологодская государственная молочнохозяйственная академия имени Н.В. Верещагина».

*oshurkova.yu.l@2.molochnoe.ru

Ключевые слова: *травматический ретикулит, общий анализ крови, биохимические показатели крови, молочные коровы, инородные тела.*

Keywords: *traumatic reticulitis, general blood test, biochemical blood parameters, dairy cows, foreign bodies.*

Поступила: 02.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Кормовой травматизм и наличие инородных тел в пищеварительной системе у коров может стать одной из причин снижения удоев и преждевременной выбраковки животных. Исследования крови в большинстве случаев могут помочь определить степень воздействия инородных тел на организм животного. Морфологический и биохимический анализ крови может показать наличие воспаления, инфекции или других заболеваний, связанных с персистенцией инородных тел в пищеварительной системе у коров. Также анализ крови может помочь определить эффективность различных методов лечения кормового травматизма у животных. Настоящее исследование было проведено с целью изучения влияния инородных тел в сетке на морфологический и биохимический профиль крови и сыворотки крупного рогатого скота. Объектом исследования были коровы айрширской породы с диагнозом травматический ретикулит и здоровые животные. В результате проведенного исследования достоверные значения отклонений в морфологическом и биохимическом профиле мы получили по таким показателям, как гемоглобин и щелочная фосфатаза. С учетом анализа литературы и полученных нами результатов травматический ретикулит у крупного рогатого скота не может быть диагностирован

на основе индивидуальных лабораторных исследований крови, поскольку даже наиболее распространенные отклонения можно наблюдать не у всех заболевших коров. Многие из этих показателей не специфичны для травматического ретикулита и могут возникать при других заболеваниях брюшной полости и грудной клетки. Предварительный диагноз может быть поставлен только на основании всех клинических и лабораторных данных.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Кормовой травматизм и наличие инородных тел в пищеварительной системе у коров может стать одной из причин снижения удоев и преждевременной выбраковки животных. [1, 2, 3]. Это заболевание вызывается попаданием в организм не перевариваемых металлических и неметаллических тупых или острых инородных предметов. Особенность травматического ретикулита и заключается в том, что болезнь может протекать без симптомов или остро, в зависимости от локализации инородного предмета, характера травмы преджелудков и соседних органов. Кроме всего прочего, кормовой травматизм связывают с высокими экономическими потерями, и поэтому всегда требуется научно обоснованный менеджмент для контроля и управления этим синдромом.

Многие авторы считают, что исследование крови у коров при травматическом ретикулите может являться одним из диагностических критериев, поскольку позволяет определить наличие воспалительных процессов, инфекций, или других заболеваний, связанных с персистенцией инородных тел в пищеварительной системе у коров. Также анализ крови может помочь определить эффективность различных методов лечения кормового травматизма у животных [4, 5].

Настоящее исследование было проведено с целью изучения влияния инородных тел в сетке на морфологический и биохимический профиль крови и сыворотки крупного рогатого скота в условиях хозяйств Вологодской области.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHOD

Исследования проводили на молочных коровах айрширской породы, с привязным содержанием, в возрасте от 5 до 10 лет с живой массой 550-600 кг в одном из животноводческих хозяйств Вологодской области в январе 2023 г. Были сформированы 2 группы, опытная (n=5) и контрольная (n=5). В опытной группе были животные с диагнозом травматический ретикулит, в контрольной - здоровые коровы. Диагноз на травматический ретикулит ставили по результатам обследования коров на наличие инородных тел с помощью металлодетектора [6].

Для проведения анализа крови от коров использовалась процедура взятия венозной крови из хвостовых вен с использованием вакуумных пробирок. Далее, проводилось исследование общего анализа крови с помощью автоматического гематологического анализатора ExigoVet17. Для определения параметров биохимических показателей крови использовался полуавтоматический биохимический анализатор «БИОЛАБ-100» с применением наборов фирмы «Вектор-Бест».

Результаты исследования представлены в виде средней арифметической и ее стандартной ошибки (M±m). При сравнении значений, характеризующих рассматриваемые группы, использовался t-тест Стьюдента для определения величины значимости различий между показателями.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В рамках нашего исследования мы провели морфологическое и биохимическое исследование крови у животных, страдающих травматическим ретикулитом, а также у здоровых контрольных животных. Полученные нами результаты исследования крови представлены в таблицах 1 и 2.

Средние значения количества эритроцитов у животных контрольной и опытной группы находились на одном уровне и соответствовали нормативным значениям. Однако количество гемоглобина у животных опытной группы было достоверно выше, чем у животных контроль-

ной группы. Наши данные отличаются от представленных в литературе. Так, в одном из исследований было установлено, что у коров с травматическими заболеваниями сетки содержание гемоглобина достоверно не отличалось от здоровых коров, но наблюдалось незначительное уменьшение числа эритроцитов [7]. У животных опытной группы мы наблюдали более высокое содержание общего числа лейкоцитов, главным образом за счет сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов, что может наблюдаться при остром воспалении, однако за рамки нормативных значений эти показатели не выходили. Аналогичная динамика изменения уровня лейкоцитов встречается и в литературе у разных авторов [5, 7]. Некоторые авторы считают, что определение общего числа лейкоцитов и лейкограммы может помочь в диагностике травматического повреждения сетки, однако есть данные, что при воспалительном процессе количество лейкоцитов у коров может сильно варьировать от сильно сниженного до сильно повышенного. Кроме того, с учетом, что костный мозг у крупного рогатого скота обладает медленной регенеративной способностью и относительно низким резервом запаса нейтрофилов, определение количества лейкоцитов и нейтрофилия могут являться плохим диагностическим критерием [7]. В опытной группе животных количество тромбоцитов оказалось незначительно выше, чем в контрольной группе, и не выходило за рамки допустимых значений. В доступной литературе очень мало сведений по оценке числа тромбоцитов в крови у жвачных животных при синдроме инородных тел в преджелудках, при этом некоторые авторы отмечают снижение их числа при прогрессировании заболевания [7].

При исследовании сыворотки крови содержание общего белка у животных опытной группы было больше, по сравнению с контрольной группой, при этом количество альбумина было одинаково в обеих группах, а С-реактивный белок был выше у коров контрольной группы, что совпадает с представленными данными в литературе некоторых авторов [5].

Таблица 1 – Морфологический анализ крови коров

Показатель ОАК	Контрольная группа	Опытная группа
Эритроциты, 10^{12}/л	6,15±0,43	6,26±0,57
Гемоглобин, г/л	91,34±8,32	119,40±5,84*
Лейкоциты, 10^9/л	5,12±0,42	7,00±0,65
Палочкоядерные нейтрофилы, 10^9/л	0,09±0,02	0,13±0,03
Сегментоядерные нейтрофилы, 10^9/л	1,70±0,24	2,12±0,27
Эозинофилы, 10^9/л	0,19±0,09	0,39±0,09
Базофилы, 10^9/л	0,14±0,05	0,09±0,05
Моноциты, 10^9/л	0,38±0,09	0,37±0,04
Лимфоциты, 10^9/л	2,61±0,40	3,82±0,59
Тромбоциты, 10^9/л	476,00±110,70	502,60±84,99

** $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой*

Таблица 2 – Биохимический анализ крови коров

Показатель	Контрольная группа	Опытная группа
Общий белок, г/л	65,20±2,74	69,12±2,49
Альбумин, г/л	22,24±1,42	22,88±0,97
Глюкоза, мМоль/л	3,23±0,05	3,68±0,07
Мочевина, мМоль/л	8,62±0,12	8,10±0,34
Креатинин, мкМоль/л	47,04±5,33	78,79±16,01
АЛТ, Ед/л	29,6±3,16	27,6±3,63
АСТ, ЕД/л	71,2±6,08	60,4±3,91
Билирубин общий, мкМоль/л	6,72±1,69	9,27±3,27
Щелочная фосфатаза, Ед/л	48,95±6,29	73,92±2,47*
Холестерин, Ммоль/л	2,87±0,43	2,11±0,39
С-реактивный белок, мг/л	7,2±1,2	6,0±0,00

** $p < 0,01$ при сравнении с контрольной группой*

Оценивая показатели содержания мочевины, уровня холестерина и глюкозы в крови, мы можем сделать вывод, что у животных всех групп эти показатели были примерно на одном уровне. В то же время, содержание креатинина и билирубина было выше у животных опытной группы, чем у контрольной. Показатели функционального состояния печени (АЛТ и АСТ) также были ниже в опытной группе, но находились в пределах нормы. В доступной литературе нет единого мнения у разных авторов по этим субстратам при травматических поражениях преджелудков у коров [5]. В наших исследованиях мы получили достоверные изменения уровня щелочной фосфатазы, который у животных опытной группы был выше по сравнению с животными контрольной группы. С учетом того, что мы не выявляли изоферменты щелочной фосфатазы, поэтому мы не можем с уверенность утверждать, что именно изофермент кишечной щелочной фосфатазы послужил причиной увеличения общей активности этого фермента. Данный вопрос в литературе освещен очень скудно [8, 9], особенно в отношении того, что касается активности щелочной фосфатазы при поражении преджелудков у жвачных животных.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате проведенного исследования достоверные значения отклонений в гематологическом и биохимическом профиле мы получили по таким показателям, как гемоглобин и щелочная фосфатаза. С учетом анализа литературы и полученных нами результатов травматический ретикулит у крупного рогатого скота не может быть диагностирован на основе индивидуальных лабораторных исследований крови, поскольку даже наиболее распространенные отклонения можно наблюдать не у всех заболевших коров. Кроме того, многие из этих результатов не специфичны для травматического ретикулита и могут возникать при других заболеваниях брюшной полости и грудной клетки. Предварительный диагноз может быть поставлен только на основании всех клинических и лабораторных данных.

MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL BLOOD PROFILE OF DAIRY COWS AFFECTED BY TRAUMATIC RETICULITIS

Popova E. L. – postgraduate student (ORCID 0000-0001-9774-3799), **Ryzhakov A. V.** – Doctor of Sciences (Veterinary), Professor, (ORCID 0000-0003-0991-0783), **Oshurkova Yu. L. –** Candidate of Sciences (Biology), Associate Professor, (ORCID 0000-0002-8376-0296), **Fomina L. L. –** Candidate of Sciences (Biology), Associate Professor of the Department of Internal Non-infectious Diseases, Surgery and Obstetrics (ORCID 0000-0001-6850-6663).

The Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education the Vologda State Dairy Academy named after N.V. Vereshchagin

*oshurkova.yu.l@2.molochnoe.ru

ABSTRACT

Feed injuries and the presence of foreign bodies in the digestive system of cows can be one of the reasons for a decrease in milk yields and premature culling of animals. Blood tests in most cases can help determine the degree of exposure of foreign bodies to the animal's body. Morphological and biochemical blood analysis can show the presence of inflammation, infection or other diseases associated with the persistence of foreign bodies in the digestive system of cows. Also, a blood test can help determine the effectiveness of various methods of treating feed injuries in animals. The present study was conducted to study the effect of foreign bodies in the mesh on the morphological and biochemical profile of blood and serum of cattle. The object of the study were Ayrshire cows with a diagnosis of traumatic reticulitis and healthy animals. As a result of the study, we obtained reliable values of deviations in the morphological and biochemical profile for such indicators as hemoglobin and alkaline phosphatase. Taking into account the analysis of the literature and the results obtained by us, traumatic reticulitis in cattle cannot be diagnosed on the basis of individual laboratory blood tests, since even the most common deviations can not be observed in all diseased cows. Many of these indicators are not specific to traumatic reticulitis and may occur in other diseases of the abdominal cavity and chest. A preliminary diagnosis can be made only on the basis of all clinical and laboratory data.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Захарова, А. В. Травматический ретикулит в молочном животноводстве ОАО «Заря» Вологодской области / А. В. Захарова, А. В. Рыжаков. - Текст: непосредственный // в сборнике: Передовые достижения науки в молочной отрасли: Сборник научных трудов по результатам работы IV Международной научно-практической конференции, посвящённой дню рождения Николая Васильевича Верещагин. Часть 1. – Вологда-Молочное: ФГБОУ ВО Вологодская ГМХА, 2022. – с. 11-14

2. Рыжаков, А. В. Металлоносительство крупного рогатого скота в условиях СХПК "Племзавод Майский" Вологодской области/ А. В. Рыжаков, Ю. Л. Ошуркова. - Текст: непосредственный // в сборнике: Перспективы устойчивого развития АПК. Сборник материалов Международной научно-практической конференции. 2017. - с. 164-167.

3. Обойшев, Р. В. Травматические болезни сетки крупного рогатого скота и их профилактика - Текст: электронный. - URL: https://www.dissercat.com/content/travmaticheskie-bolezni-setki-krupnogo-rogatogo-skota-i-ikh-profilaktika/read

4. Ошуркова, Ю. Л. Биологические аспекты интенсификации животноводства / Ю. Л. Ошуркова, Т. И. Глаголева - Текст: непосредственный // Российская сельскохозяйственная наука. – 2017. – № 5. – С. 51-53. – EDN ZXLBBD.

5. Gokce, Ismet & Gokce, G & Cihan, Mete. (2007). Alterations in Coagulation Profiles and Biochemical and Haematological Parameters in Cattle with Traumatic Reticuloperitonitis. - Текст: электронный. - URL: https://www.researchgate.net/publication/6577343.

6. Патент на полезную модель № 214239 U1 Российская Федерация, МПК G01V

3/10, A61D 17/00. Металлодетектор для диагностики травматического ретикулита крупного рогатого скота: № 2022103999: заявл. 16.02.2022: опубл. 18.10.2022 / А. В. Рыжаков, Е. Л. Попова, Ю. Л. Ошуркова [и др.]; заявитель федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Вологодская государственная молочнохозяйственная академия имени Н.В. Верещагина".
7. Lakhpati, A. Hematological and radiographic findings in cattle with foreign body syndrome / A. Lakhpati, B. Ambore, G. Wankhede et al. - Текст: непосредственный // The Pharma Innovation Journal, 2019. – № 8(10). – с. 268-273.
8. Activity of alkaline phosphatase in cattle blood plasmaaccording to stage of pregnancy - Текст: электронный. - URL: http://www.vuzv.sk/slju/08_1/Soch.pdf.
9. Activity of alkaline phosphatase in cattle blood plasmaaccording to stage of pregnancy - Текст: электронный. - URL: http://www.vuzv.sk/slju/08_1/Soch.pdf.

REFERENCES

1. Zakharova, A.V. Traumatic reticulitis in dairy farming of JSC "Zarya" of the Vologda region / A.V. Zakharova, A.V. Ryzhakov. - Text: direct // In the collection: Advanced achievements of science in the dairy industry: A collection of scientific papers based on the results of the IV International Scientific and Practical Conference dedicated to the birthday of Nikolai Vasilyevich Vereshchagin. Part 1. – Vologda-Dairy: Vologda State Agricultural Academy, 2022. – pp. 11-14.
2. Ryzhakov, A.V. Metal-bearing of cattle in the conditions of the Maysky Stud Farm in the Vologda region/ A.V. Ryzhakov, Yu. L. Oshurkova. - Text: direct // In the collection: Prospects for the sustainable development of agriculture. Collection of materials of the International Scientific and Practical Conference. 2017. - pp. 164-167.
3. Oboishev R. V. Traumatic diseases of cattle nets and their prevention - Text: electronic. - URL: https://www.dissercat.com/content/travmaticheskie-bolezni-setki-krupnogo-rogatogo-skota-i-ikh-profilaktika/read.
4. Oshurkova, Yu. L. Biological aspects of livestock intensification / Yu. L. Oshurkova, T. I. Glagoleva - Text: direct // Russian agricultural science. – 2017. – No. 5. – pp. 51-53.
5. Gokce, Ismet & Gokce, G & Cihan, Mete. (2007). Alterations in Coagulation Profiles and Biochemical and Haematological Parameters in Cattle with Traumatic Reticuloperitonitis. - Text: electronic. - URL: https://www.researchgate.net/publication/6577343.
6. Utility model Patent No. 214239 U1 Russian Federation, IPC G01V 3/10, A61D 17/00. Metal detector for the diagnosis of traumatic reticulitis of cattle: No. 2022103999: application 16.02.2022: publ. 18.10.2022 / A.V. Ryzhakov, E. L. Popova, Yu. L. Oshurkova [et al.]; applicant Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Vologda State Dairy Academy named after N.V. Vereshchagin".
7. Lakhpati, A. Hematological and radiographic findings in cattle with foreign body syndrome / A. Lakhpati, V. Ambore, G. Wankhede et al. - Text: direct // The Pharma Innovation Journal, 2019. № 8(10). - pp. 268 -273.
8. Activity of alkaline phosphatase in cattle blood plasmaaccording to stage of pregnancy - Text: electronic. - URL: http://www.vuzv.sk/slju/08_1/Soch.pdf.
9. Activity of alkaline phosphatase in cattle blood plasmaaccording to stage of pregnancy - Text: electronic. - URL: http://www.vuzv.sk/slju/08_1/Soch.pdf.

УДК 577.152.262:612.1:636.2.034
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.4.498

КОРРЕКЦИЯ НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ У КОРОВ В ПЕРИОД РАЗДОЯ С ПОМОЩЬЮ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ

Ситчихина А.В. – асс. кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы, хирургии, акушерства и внутренних болезней животных; **Сайтханов Э.О.** – канд. биол. наук, доцент, зав. кафедрой ветеринарно-санитарной экспертизы, хирургии, акушерства и внутренних болезней животных; **Герцева К.А.** – канд. биол. наук, доц. кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы, хирургии, акушерства и внутренних болезней животных; **Никулова Л.В.** – канд. биол. наук, доц. кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы, хирургии, акушерства и внутренних болезней животных.

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный агротехнологический университет имени П.А. Костычева»
*Sit4ihina@yandex.ru

Ключевые слова: *обмен веществ, кормовая добавка, гуминовые кислоты, период раздоя, рубцовое пищеварение, микроэлементы.*
Keywords: *metabolism, feed additive, humic acids, milking period, rumen digestion, microelements.*

Поступила: 06.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ
Статья посвящена оценке изменений в клиническом состоянии, гематологических показателях, некоторых биохимических показателях крови, отражающих состояние белково-углеводного обмена у коров в период раздоя, а также о результатах коррекции данного состояния кормовой добавкой на основе гуминовых кислот «Фульват». В статье рассмотрены физиологические процессы, которые происходят в обмене веществ у коров в новотельный период и период раздоя, отражены результаты исследований оценки динамики и коррекции основных критических показателей в гематологических, биохимических показателях крови, а также в витальных изменениях у коров. Исследования выполнены с применением современных методик, приборов и оборудования. Объектом исследования служили коровы, 2-3 лактации голштинизированной черно-пестрой породы. Все животные находились на привязном содержании. Технология содержания стойловая круглогодичная, рацион кормления сбалансирован по сухому веществу по Калашникову А. П. Для исследований было сформировано 2 группы: опытная и контрольная. Животные опытной группы получали основной рацион (ОР) + кормовую добавку «Фульват» на протяжении 60 дней с момента отела; коровы контрольной группы содержались только на основном рационе, без использования добавок в кормлении. Кормовую добавку вводили перорально с основным рационом, в смеси с концентрированным кормом. Общее время наблюдения за показателями гомеостаза у животных составило 60 дней. Исследования показали, что кормовая добавка благотворно влияет на эритропоэз за счет наличия

в химическом составе железа, кобальта, меди и других микро- и макроэлементов, повышая уровень гемоглобина в опытной группе на 60-ый день лактации на 19,7 %, снижая риск развития субклинического кетоза, повышает уровень ионизированного кальция, улучшает некоторые показатели рубцового пищеварения (pH рубца, количество инфузорий).

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Для поддержания интенсивного обмена веществ у коров после отела необходимо поступление достаточного количества энергии [2, 4]. При современном высококонцентратном типе кормления коров возникают высокие риски развития отрицательного энергетического баланса, вследствие изменения соотношения летучих жирных кислот в рубце. Согласно данным ученых, дефицит энергии компенсируется процессами глюконеогенеза из триглицеридов, в результате которого в качестве промежуточного продукта выделяются кетоновые тела. В организме животного образуется избыток неэстерифицированных жирных кислот, которые при прохождении реакций бета-окисления превращаются в молекулы ацетил-КоА с образованием кетоновых тел, приводя к развитию нарушения обмена веществ [1, 6]. Низкий уровень потребления коровами кормов в постотельный период приводит к дефициту витаминов и микроэлементов таких как железо, медь, кобальт, цинк, йод.

Изменения pH в рубце в постотельный период могут приводить к возникновению нарушений рубцовой ферментации [5, 6, 7].

Для балансировки рациона в постотельный период применяют различные кормовые добавки, богатые в своем составе комплексом макро- и микроэлементов, оказывающие терапевтическое действие на работу желудочно-кишечного тракта и стимулирующее обмен веществ, обладающие выраженным пребиотическим, гепатопротективным и иммуномодулирующим действием [3, 4, 7]. К подобного рода добавкам можно отнести гуминовые кислоты, входящие в состав кормовой добавки «Фульват». В практике ветеринарной медицины гуминовые кислоты используют в качестве энтеросорбентов токсинов микробного, грибкового происхождения, химических ядов, солей тяжелых металлов, радиотоксинов; для стимуляции продуктивности животных, выступая в качестве средств, способствующих повышению эффективности пищеварения; как иммуномодуляторы и лечебные препараты [5, 8]. При введении их в рацион животных они способствуют повышению переваримости питательных веществ, увеличивают продуктивность при снижении затрат кормов на единицу продукции, в связи с чем изучение особенности их влияния на организм актуальная и важная задача для ветеринарных врачей [5, 6].

Таким образом, целью нашего исследования является оценка некоторых изменений показателей обмена веществ у коров в период раздоя, а также коррекция этих показателей при применении кормовой добавки «Фульват».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Научно-исследовательская работа была выполнена в зимне-весенний период 2023 года на базе животноводческого комплекса Рязанской области Рязанского района ООО «Заря» и на базе научно-исследовательской лаборатории кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы, акушерства, хирургии и внутренних болезней животных ФГБОУ ВО РГАТУ. Объектом исследования служили коровы, 2-3 лактации черно-пестрой голштинизированной породы. В период раздоя группы формировали по методу аналогов: по возрасту, дни лактации, продуктивности (7500-8000 тыс.кг. молока за 305 дней лактации), среднему весу (500-550 кг). Все животные находились на столовом круглогодичном содержании, рацион кормления сбалансирован по сухому веществу по Калашникову А. П.

Для исследований было сформировано 2 группы: опытная (n=10) и контрольная (n=10). Животные опытной группы

получали основной рацион (ОР) + кормовую добавку «Фульват» в дозе 120 гр/голову 1 раз в день, которая в своем составе содержит 56,2±1,8 % гуминовых кислот и 17,9 % фульвовых кислот, железо (22000±6200 мг/кг), медь (9,7±1,9 мг/кг), кобальта (1,62±0,65 мг/кг), кальция (20300±6100 мг/кг) на протяжении 60 дней с момента отела; коровы контрольной группы содержались только на основном рационе, без использования добавок в кормлении. Кормовую добавку вводили перорально с основным рационом, в смеси с концентрированным кормом.

Общее время наблюдения за показателями гомеостаза у животных составило 60 дней.

Клинический осмотр коров проводили по общепринятой в ветеринарии методике. Дополнительно проводили оценку руминации (в 2 минуты), оценку показателей рубцового пищеварения (pH рубцового содержимого, количество инфузорий). Забор рубцового содержимого проводили по общепринятой методике с использованием насоса Комовского. Кровь у животных отбирали с помощью вакуумной системы из хвостовой вены с соблюдением правил асептики и антисептики. Общеклиническое исследование крови проводили на автоматическом гематологическом анализаторе ABACUS JUNIOR VET, (DIATRON, Австрия). Изучали такие показатели как лейкоциты, эритроциты, гемоглобин, гематокрит, тромбоциты. pH метрия рубцовой жидкости была проведена сразу после отбора проб pH-метром-150 МИ.

Исследования сыворотки крови проводили на биохимическом и иммуноферментном автоматическом анализаторе ChemWell 2910 Combi на такие показатели, как общий белок, АСТ, АЛТ, глюкозу, фосфор. Забор анализов проводился в 1-ый, 30-ый и 60-ый дни после отела.

Кетоновые тела определяли с помощью прибора «FreeStyle Optium», принцип работы которого основан на количественной оценке уровня b-гидроксибутирата в пробах свежей цельной крови.

Количество ионизированного кальция в крови определяли на анализаторе электролитов EASYLYTE CALCIUM Na/K/Ca/pH (Medica Corp., США).

Достоверность результатов определяли путем статистической обработки данных в приложении Microsoft Excel расширение AtteStat с использованием критерия Манна-Уитни. Результаты исследования представлены в формате M±m, где M – показатель среднего арифметического значения, а m – стандартное отклонение. Достоверной считали разницу при уровне значимости $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В ходе научно-исследовательской работы установлено, что клиническое состояние у животных всех групп находилось в пределах физиологической нормы и за весь период наблюдений отклонений зафиксировано не было (таблица 1).

Исходя из данных таблицы 1, отмечается, что у коров в опытной и контрольной группах на 60-ый день лактации происходит снижении частоты дыхательных движений на 12,9 % соответственно, по сравнению с 1-ым днем лактации ($p<0,05$); количество руминаторных сокращений у коров к 60-му дню лактации в опытной и контрольной группе увеличивалось на 45,9 % и на 36,4 % соответственно ($p<0,05$).

Согласно данным таблицы 2, за все время проведения научно-исследовательской работы в опытной группе на 60-ый день лактации отмечено достоверное повышение эритроцитов на 14,8 % по сравнению с первым днем лактации. В контрольной группе на 60-ый день лактации отмечена четкая тенденция к увеличению данного показателя по сравнению с 1-ым днем лактации.

Начиная с 30-го дня лактации и до 60-го в опытной группе отмечена тенденция к увеличению концентрации эритроцитов и гемоглобина. А оценивая содержание гемоглобина в опытной группе по сравнению с 60-ым днем лактации, было установлено его достоверное повышение на 19,7 % ($p<0,05$). При межгрупповой оценке гемоглобина на 60-ый день отме-

чено достоверное повышение данного показателя на 16,7 % (p<0,05) в опытной группе по сравнению с контрольной. Мы полагаем, что данный рост обусловлен наличием в кормовой добавке легкоусвояемого железа, а также меди и кобальта, что способствовало насыщению эритроцитов гемоглобином. Увеличение количества эритроцитов и гематокрита у животных опытной группы 60-ого дня лактации также свидетельствует об усилении у них гемопоэза. В то же время как в контрольной группе нами было зафиксировано достоверное снижение гемоглобина у коров к 60-му дню лактации по сравнению с 1-ым днем на 6,0 % (p<0,05). Такое снижение предположительно связано с дефицитом микроэлементов в рационе лактирующих коров.

Таблица 1 – Показатели физикального осмотра коров, M±m

Показатели	День лактации					
	1-ый		30-ый		60-ый	
	Группы					
	опыт (n=10)	контроль (n=10)	опыт (n=10)	контроль (n=10)	опыт (n=10)	контроль (n=10)
Температура, °С	38,54±0,55	38,35±1,15	39,52±1,53	38,48±1,35	38,45±0,58	38,43±1,15
Частота сердечных сокращений, в минуту	78,38±1,53	70,81±1,35	71,52±1,15	72,58±0,58	75,32±1,55	72,35±1,15
Частота дыхательных движений, в минуту	29,57±2,28	29,56±2,25	25,75±2,15	25,15±3,15	25,15±3,45*	25,73±2,53*
Руминация сокр/2 мин	2,35±1,05	2,72±0,42	3,58±1,35	3,15±0,55	4,35±1,05*	4,28±1,05*

*Примечание: * – p < 0,05, относительно показателей 1 дня лактации.*

Таблица 2 – Гематологические показатели исследуемых коров, M±m

Показатели	День лактации					
	1-ый		30-ый		60-ый	
	Группы					
	опыт (n=10)	контроль (n=10)	опыт (n=10)	контроль (n=10)	опыт (n=10)	контроль (n=10)
Эритроциты, 10^{12}/л	5,83±0,49	5,29±0,43	5,91±0,48	4,99±0,45	6,85±0,44*	5,99±0,55
Гемоглобин, г/л	96,90±6,08	102,30±3,08	102,30±12,08	100,15±6,36	116,00±10,48**	96,55±12,36*
Гематокрит, %	28,11±3,35	29,10±3,32	30,50±3,35	30,18±3,29	33,25±3,33*	30,50±3,29
Лейкоциты, 10^{9}/л	11,44±4,58	12,1±4,42	7,39±2,51	7,26±4,38	7,73±4,48	7,26±3,38

*Примечание: * – p<0,05, относительно показателей 1-ого дня лактации;*
*** – p<0,05, относительно показателей контрольной группы.*

Таблица 3 – Динамика биохимических показателей крови коров, M±m

Показатели	День лактации					
	1-ый		30-ый		60-ый	
	Группы					
	опыт (n=10)	контроль (n=10)	опыт (n=10)	контроль (n=10)	опыт (n=10)	контроль (n=10)
Общий белок, г/л	69,05±3,15	68,60±3,35	71,35±3,08	73,25±2,45	81,27±2,55*	83,20±3,36*
АСТ, ед/л	96,23±5,08	79,15±5,08	95,05±5,08	95,35±2,36	112±2,48	115,28±8,36
АЛТ, ед/л	18,25±1,35	17,15±1,28	19,08±2,35	20,87±2,15	19,16±2,33	22,16±2,14*
Кетоновые тела, ммоль/л	0,6±0,02	0,6±0,02	0,8±0,51	1,4±0,32	0,9±0,48**	1,97±0,97*
Глюкоза, ммоль/л	2,97±0,61	3,5±1,04	2,7±0,8	3,3±1,32	2,73±0,48	2,83±0,97*
Ионизированный кальций, ммоль/л	0,96±0,1	1,02±0,05	1,09±0,08	1,12±0,04	1,15±0,04*	1,12±0,03*
Фосфор, ммоль/л	1,54±0,2	1,86±0,2	1,59±0,38	1,4±0,32	1,69±0,4	1,62±0,14

*Примечание: * – p<0,05, относительно показателей 1-ого дня лактации;*
*** – p<0,05, относительно показателей контрольной группы.*

Согласно данным биохимических показателей крови у лактирующих коров (таблица 3), выявлено, что у коров в 1-ый день лактации в исследуемых группах отмечался высокий уровень глюкозы, что может быть связано с активацией гипофизарно-надпочечниковой системы во время отела.

Отмечено также, что на 60-ый день после отела у коров контрольной группы наблюдалось достоверное снижение глюкозы на 19,1 % (p<0,05) по отношению к 1-му дню после отела. В опытной группе, напротив, достоверных изменений данного показателя зафиксировано не было, что указывает на отсутствие энергетического дефицита. Общий белок в контрольной и опытной группах на 60-ый день лактации повышался на 17,5 % и на 15,5 % соответственно (p<0,05), что может указывать на восстановление белкового обмена после отела. Достоверный рост АЛТ и кетоновых тел отмечался у коров в контрольной группе на 60-ый день лактации на 22,6 % и на 69,5 % соответственно, что может свидетельствовать о развитии субклинического кетоза у коров. В то время как при межгрупповой оценке уровня кетоновых тел отмечалось достоверное повышение данного показателя на 54,3 % (p<0,05) в контрольной группе по сравнению с опытной, что говорит о повышенном риске развития в данной группе кетоза.

Уровень ионизированного кальция в крови у коров контрольной и опытной группах в день отела был на нижней границе нормы [9], однако на 30-ый день отмечалась четкая тенденция увеличения этого показателя в группах, а к 60-му дня лактации достоверный рост на 8,0 % и на 16,5 % (p<0,05) соответственно.

При исследовании рубцового содержимого у коров опытной группах установлено достоверное снижение показателя pH к 60-му дню лактации по сравнению с днем отела на 4,9 % (p<0,05), а также увеличении общего количества инфузорий (рисунок 1), что свидетельствует о пребиотическом действии. В свою очередь выявлено, что у коров контрольной группы к 60-му дню лактации происходи-

ло достоверное снижение числа инфузорий в рубце (рисунок 2) на 24,9 % ($p<0,05$). Предположительно увеличение числа инфузорий в опытной группе связано с изменением pH с помощью кормовой добавки (таблица 4).

При анализе рубцового содержимого установлено, что в 1-ый день после отела и в опыте, и в контроле pH находился в диапазоне 7,53-7,57, то есть имел слабощелочную реакцию (при норме 6,2-7,4). Мы предполагаем, что такое смещение могло быть вызвано присутствием зеленой массы люцерны в рационе, в которой возможно было высокое содержание калия (одна из причин – избыток калийных удобрений). После применения «Фульвата» в опытной группе на 60-ый день наблюдалось достоверное снижение показателя pH с 7,53±0,17 до 7,16±0,08, что возможно связано с энтеросорционными и гепатопротекторными свойствами гуматов, за счет уменьшения количества аммиака в рубце. При межгрупповой сравнительной оценке показателей рубцового пищеварения отмечено, что на 60-ый день лактации pH рубцового содержимого у коров опытной группы был ниже на 4,6 % по сравнению с контрольной ($p<0,05$), а количество инфузорий в опытной группе выше на 32,4 % по сравнению с контрольной ($p<0,05$), что наглядно представлено на рисунке 1.

Показатели	День лактации					
	1-ый		30-ый		60-ый	
	Группы					
	опыт (n=10)	контроль (n=10)	опыт (n=10)	контроль (n=10)	опыт (n=10)	контроль (n=10)
pH	7,53±0,17	7,57±0,12	7,07±0,13	7,44±0,16	7,16±0,08 **	7,49±0,10
Инфузории, тыс./мкл	919,64± 168,88	855,36± 174,74	950,00± 178,57	942,86± 150,00	950,43± 91,08**	641,79± 64,39*

*Примечание: * – $p<0,05$, относительно показателей 1-ого дня лактации; ** – $p<0,05$, относительно показателей контрольной группы.*

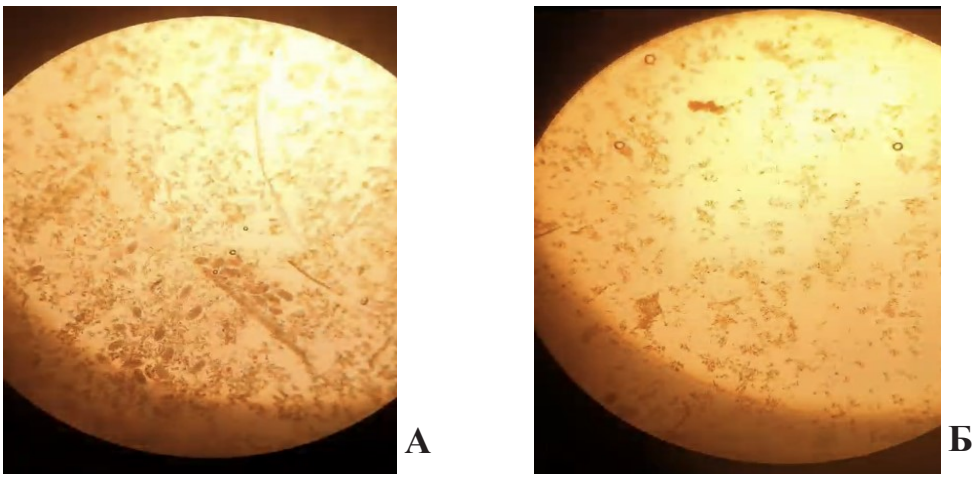


Рисунок 1 – Оценка количества и активности инфузорий на 60-й день после отела: А – опытная группа; Б – контрольная группа (нативный препарат; ×80).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Результаты исследований показывают, что применение кормовой добавки «Фульват» благотворно влияет на эритропоэз за счет наличия в химическом составе железа, кобальта, меди и других микро - и макроэлементов, достоверно повышая уровень гемоглобина и гематокрита в опытной группе на 60-ый день лактации на 19,7 %. Применение «Фульвата» в течение 60 дней после отела повышает уровень ионизированного кальция в крови у животных опытной группы достоверно на 16,5 % по сравнению с 1-ым днем отела. Нормализует кислотность рубцового содержимого у коров опытной группы и увеличивает сохранение количество инфузорий в пределах физиологического уровня. Способствует нормализации показателей белково-углеводного обмена и недопущения развития субклинического кетоза в постотельный период.

Использование гуминовой добавки нормализует рубцовое пищеварение за счет увеличения численности инфузорий по сравнению с контролем.

Применение кормовой добавки «Фульват» в рационе лактирующих коров на протяжении 60 дней оказывает благотворное воздействие на общеклиническое состояние коров и их метаболический статус.

CORRECTION OF SOME IN METABOLIC PARAMETERS IN COWS DURING THE MILKING PERIOD WITH THE HELP OF A FEED ADDITIVE

Sitchikhina A.V. – Assistant of the Department of Veterinary and Sanitary Examination, Surgery, Obstetrics and Internal Diseases of Animals; **Saythanov E.O.** – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Veterinary and Sanitary Examination, Surgery, Obstetrics and Internal Diseases of Animals; **Gertseva K.A.** – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Veterinary and Sanitary Examination, Surgery, Obstetrics and Internal Diseases of Animals; **Nikulova L.V.** – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Veterinary and Sanitary Examination, Surgery, Obstetrics and Internal Diseases of Animals.

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Ryazan State Agrotechnological University named after P.A. Kostychev"

*Sit4ihina@yandex.ru

ABSTRACT

The article is devoted to the assessment of changes in the clinical condition, hematological parameters, some biochemical blood parameters reflecting the state of protein-carbohydrate metabolism in cows during the milking period, as well as the results of correction of this condition with a feed additive based on humic acids "Fulvat". The article examines the physiological processes occurring in the metabolism of cows during the new-body period and the period of separation, reflects the results of the studies conducted in assessing the dynamics and correction of the main critical indicators in hematological, biochemical blood parameters, as well as in vital changes in cows. The research was carried out using modern techniques, instruments and equipment. The object of the study was cows, 2-3 lactation of a black-and-white breed. All the animals were on tethered maintenance and a balanced diet. 2 groups were formed for research: experimental and control. The animals of the experimental group received the main ration (OR) + the feed additive "Fulvat" for 60 days from the moment of calving; the cows of the control group were kept only on the main ration, without the use of additives in feeding. The feed additive was administered orally with the main diet, mixed with concentrated feed. The total time of observation of the indicators of homeostasis in animals was 60 days. Studies have shown that the feed additive has a beneficial effect on erythropoiesis due to the presence of iron, cobalt, copper and other micro- and macroelements in the chemical composition, increasing the level of hemoglobin in the experimental group on the 60th day of lactation by 19,7 %, reducing the risk of developing a ketogenic situation, increases the level of ionized

calcium in the blood of animals, which in 2 times higher, compared with animals in the control group; normalizes the acidity of the scar content in cows of the experimental group and the preservation of the number of infusoria at the physiological level.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Баковецкая, О. В. Морфологические и биохимические показатели крови коров в период эструса / О. В. Баковецкая, О. А. Федосова // Инновац. Технолог.и технич. средства для АПК: мат. Междун. Науч.-практ. конф. молодых ученых и специалистов, Воронеж, 15–17 ноября 2016 г. Том Часть 1 – Воронеж: Воронежский ГАУ им. Императора Петра I, 2016 – С. 230-234.
2. Комплексное применение витаминно-минеральных премиксов в рационе коров в дородовый и послеродовый периоды / И. Ю. Быстрова, Ж. С. Майорова, К. А. Герцева [и др.] // Молочнохозяйственный вестник. – 2022. – № 1(45). – С. 44-59. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/kompleksnoe-primenenie-vitaminnomineralnyh-premiksov-v-ratsione-korov-v-dorodovyy-i-poslerodovyy-periody
3. Володькина, Г. М. Влияние пробиотиков на течение процессов в рубце и обмен веществ у коров / Г. М. Володькина, С. Ю. Иващенко // Инновационные технологии в АПК региона: достижения, проблемы, перспективы развития: Сборник научных трудов по материалам Национальной научно-практической конференции, Тверь, 09–11 февраля 2021 года. – Тверь: Тверская государственная сельскохозяйственная академия, 2021. – С. 130-134.
4. Влияние адсорбента и фитобиотика на плотность инфузорной фауны рубца и молочную продуктивность коров / Т. С. Кулакова, Е. А. Третьяков, Л. Л. Фомина [и др.] // Российская сельскохозяйственная наука. – 2019. – № 1. – С. 43-45. doi: 10.31857/S2500-26272019143-45
5. Молчанова, М. А. Особенности жевательной активности коров голштинской породы в транзитный период в условиях промышленного молочного комплекса / М. А. Молчанова, Р. М. Кертиев // Известия Оренбургского ГАУ. – 2020. – № 5(85). – С. 211-215. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-zhevatelnoy-aktivnosti-korov-golshtinskoy-porody-v-tranzitnyy-period-v-usloviyah promyshlennogo-molochnogo-kompleksa
6. Тумилович, Г. А. Гематологические и биохимические показатели крови при нарушении обмена веществ у коров в транзитный период / Г. А. Тумилович, Д. Н. Харитоник, Ю. А. Шумилин // Экологические проблемы продовольственной безопасности (EPFS 2022): Мат. Международ. научн.-практ. конф., Воронеж, 21–22 февраля 2022 года. – Воронеж: Воронежский ГАУ им. Императора Петра I, 2022. – С. 129-136.
7. Особенности рубцового метаболизма протеинов у крупного рогатого скота в условиях крупных животноводческих комплексов / Г. В. Уливанова, О. А. Федосова, О. А. Карелина [и др.] // Науч.-инновац. аспекты аграрного производства: перспективы развития: Мат. II Нац. Научн.-практ. конф. с межд. Уч., посвящ. памяти д.т.н., профессора Н. В. Бышова, Рязань, 24 ноября 2022 года. – Рязань: Рязанский ГАТУ им. П.А. Костычева, 2022. – С. 390-395.
8. Хализова, З. Микробиом рубца - основа большого молока / З. Хализова // Эффективное животноводство. – 2021. – № 1(167). – С. 12-21. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/mikrobiom-rubtsa-osnova-bolshogo-moloka
9. Kvart C, Larsson L. Studies on ionized calcium in serum and plasma from normal cows. Its relation to total serum calcium and the effects of sample storing. Acta Vet Scand. 1978;19(4):487-96. doi: 10.1186/BF03547588. PMID: 33546; PMCID: PMC8366362.

REFERENCES

1. Bakovetskaya, O. V. Morphological and biochemical parameters of cows' blood during estrus / O. V. Bakovetskaya, O. A. Fedosova // Innovac. Technologist.and technical means for the agro-industrial complex: mat.

Inter. Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Specialists, Voronezh, November 15-17, 2016 Volume Part 1 – Voronezh: Voronezh State University named after Emperor Peter I, 2016 – pp. 230-234.
2. Complex application of vitamin and mineral premixes in the diet of cows in the prenatal and postpartum periods / I. Y. Bystrova, Zh. S. Mayorova, K. A. Hertseva [et al.] // Dairy Bulletin. – 2022. – No. 1(45). – pp. 44-59.
3. Volodkina, G. M. The effect of probiotics on the course of processes in the rumen and metabolism in cows / G. M. Volodkina, S. Y. Ivashchenko // Innovative technologies in the agro-industrial complex of the region: achievements, problems, development prospects: A collection of scientific papers based on the materials of the National Scientific and Practical Conference, Tver, February 09-11, 2021. – Tver: Tver State Agricultural Academy, 2021. – pp. 130-134.
4. The influence of adsorbent and phytobiotic on the density of the infusion fauna of the rumen and dairy productivity of cows / T. S. Kulakova, E. A. Tretyakov, L. L. Fomina [et al.] // Russian agricultural science. – 2019. – No. 1. – pp. 43-45.
5. Molchanova, M. A. Features of the chewing activity of Holstein cows during the transit period in the conditions of an industrial dairy complex / M. A. Molchanova, R. M. Kertiev // Izvestiya Orenburg State Agrarian University. – 2020. – № 5(85). – Pp. 211-215.
6. Tumilovich, G. A. Hematological and biochemical blood parameters in case of metabolic disorders in cows during the transit period / G. A. Tumilovich, D. N. Kharitonik, Yu. A. Shumilin // Environmental problems of food security (EPFS 2022): Mat. International. scientific. -practical conference, Voronezh, February 21-22, 2022. – Voronezh: Voronezh State University named after Emperor Peter I, 2022. – pp. 129-136.
7. Features of scar protein metabolism in cattle in conditions of large livestock complexes / G. V. Ulivanova, O. A. Fedosova, O. A. Karelina [et al.] // Nauch. -innovats. aspects of agricultural production: Development prospects: Mat. II Nats. Scientific. -practice. conf. with inter. Uch., dedicated. in memory of Doctor of Technical Sciences, Professor N. V. Byshov, Ryazan, November 24, 2022. – Ryazan: Ryazan State Medical University named after P.A. Kostychev, 2022. – pp. 390-395.
8. Khaliza, Z. Rumen microbiome - the basis of big milk / Z. Khaliza // Efficient animal husbandry. – 2021. – № 1(167). – Pp. 12-21.
9. Kvart C, Larsson L. Studies on ionized calcium in serum and plasma from normal cows. Its relation to total serum calcium and the effects of sample storing. Acta Vet Scand. 1978;19(4):487-96. doi: 10.1186/ BF03547588. PMID: 33546; PMCID: PMC8366362.

УДК: 619:616.6:615.03
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.507

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ КОРМОВЫХ ДОБАВОК ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК У КОШЕК

Федоткина С.Н.* – канд. ветеринар. наук; **Шинкаренко А.Н.** – д-р ветеринар. наук, проф. (ORCID 0000-0003-4629-8175); **Струсовская О.Г.** – д-р фарм.н., доц.

ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России

*dyshansveta@mail.ru

Ключевые слова: *кошки, хроническая болезнь почек, кормовые добавки, эффективность.*
Key words: *cats, chronic kidney disease, feed additives, efficiency.*

Поступила: 16.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Хроническая болезнь почек у кошек является одним из самых распространенных заболеваний. Главным направлением паллиативной терапии хронической болезни почек и продления времени выживания кошек является ограничение фосфатов в питании и нормализация содержания фосфора в организме животных. С целью уменьшения фосфатов применяют фосфатбиндеры – вещества, механизм действия которых заключается в связывании избытка фосфат–ионов в желудочно-кишечном тракте, что препятствует их поступлению в кровяное русло. Цель исследования- провести анализ эффективности кормовых добавок «Урдетокс» и «Ипакитине» в сравнительном аспекте при паллиативной терапии хронической болезни почек у кошек. Определение биологической активности предлагаемой кормовой добавки для кошек с ХБП в форме таблеток проводили на базе ветеринарных клиник гг. Волгограда, Санкт – Петербурга, Москвы, в период 2021-2022 гг. Объектом изучения служили кошки, владельцы которых жаловались на потерю массы тела животных, часто общее угнетенное состояние, снижение аппетита, периодическую рвоту, частое мочеиспускание, тусклую шерсть.

Постановку диагноза и эксперимента осуществляли путем сбора анамнестических данных, определении клинических признаков и данных лабораторных исследований - общий анализ мочи и биохимический анализ сыворотки крови. Исследования показали, что кормовая добавки, содержащие в своем составе фосфатбиндер и детоксикант, способствуют устранению основных клинических проявлений хронической почечной недостаточности. Введение незаменимой аминокислоты – таурина в состав кормовой добавки в форме таблеток Урдетокс, а также точность дозирования и простота применения увеличивают эффективность ее биологического действия.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Хроническая болезнь почек (ХБП) у кошек является одним из самых распространенных заболеваний [2], которое в независимости от возраста ХБП диагностируется у кошек в 2 – 20% случаев [7] и в 30-40% случаев у кошек старше 10 лет. Является наиболее частой причиной смертности кошек старше 5 лет (более 13% случаев) [8].

Для диагностики в клинической практике обычно служит сочетание азотемии и низкого удельного веса мочи [8], а маркерами хронической болезни почек считают высокое содержание в крови мочевины, креатинина и фосфора [4].

Главным направлением паллиативной терапии ХБП и продления времени выживания кошек, является ограничение фосфатов в питании и нормализация содержания фосфора в организме животных. С целью уменьшения фосфатов при ХБП применяют фосфатбиндеры – вещества, механизм действия которых заключается в связывании избытка фосфат–ионов в желудочно-кишечном тракте, что препятствует их поступлению в кровяное русло [1]. В настоящее время в ветеринарной практике наиболее часто применяют такие препараты как Ренал (Италия) и Ипакитине (Франция), в составе которых содержатся кальция карбонат (фосфатбиндер) и хитозан (детоксикант). Нефроантитокс – препарат отечественного производства (АО «Агробиопром») в качестве биологически активных веществ содержит витамин B_6, экстракт листьев артишока и фосфатбиндер – кальция карбонат. Все перечисленные препараты выпускают в форме порошка. Кормовая добавка в форме таблеток для кошек с ХБП – Урдетокс, в качестве основных действующих веществ содержит кальция карбонат (фосфатбиндер), хитозан (детоксикант) [3] и таурин – незаменимую для кошек аминокислоту [5]. Достаточная концентрация таурина в организме кошек приобретает особое значение при ХБП, так как аминокислота обладает мембрано-протекторными свойствами, нормализует обмен ионов кальция и калия в клетках, снижает уровень мочевины и креатинина, уменьшая уремическую интоксикацию, приводящую к гибели животного [1], поэтому дефицит таурина ассоциируют, в том числе и с дисфункцией почек [9].

Цель исследования – провести анализ эффективности кормовых добавок «Урдетокс» и «Ипакитине» в сравнительном аспекте при паллиативной терапии хронической болезни почек у кошек.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Определение биологической активности предлагаемой кормовой добавки для кошек с ХБП в форме таблеток проводили на базе ветеринарных клиник гг. Волгограда, Санкт – Петербурга, Москвы, в период 2021-2022 гг. Объектом изучения служили кошки, владельцы которых жаловались на потерю массы тела животных, часто общее угнетенное состояние, снижение аппетита, периодическую рвоту, частое мочеиспускание, тусклую шерсть. Постановку диагноза осуществляли путем сбора анамнестических данных, определении клинических признаков и данных лабораторных исследований:

1. сбор анамнеза проводили в ходе беседы с владельцем животного (выясняли признаки начальных проявлений заболевания, его продолжительность, характер мочеотделения и мочеиспускания, снижение аппетита, рвоты и ее кратности, условия содержания, рацион);

2. клинические признаки определяли с учетом сниженного индекса массы тела, неврологических и поведенческих нарушений, часто умеренной дегидратацией, пальпацией (склонность к уменьшению размеров одной или обеих почек, иногда бугристость их поверхности), измерением артериального давления и температуры тела;

3. лабораторные исследования включали общий анализ мочи и биохимический анализ сыворотки крови; гипертиреоз исключали измерением гормона общий Т4;

4. ультразвуковое сканирование позволяло исключить опухолевый процесс,

поликистоз, эктазии.

Кровь для биохимического исследования отбирали из латеральной вены с наружной стороны голени на базе ветеринарной клиники; утреннюю мочу для исследования собирали владельцы животных с помощью набора «Check Up» бренда «Pet it» для кошек. Исследования крови и мочи проводили в день начала эксперимента, на 7, 14, 21 и 30-е сутки.

Для проведения запланированных исследований были отобраны 20 животных обоего пола, породистые, метисы и беспородные в возрасте 6 – 10 лет с массой тела 2,5 кг – 6,5 кг с диагнозом ХБП III степени по IRIS – содержание креатинина 251–440 мкмоль/л, которые рандомно были распределены на 2 группы, подобранные по принципу аналогов, по мере поступления животных в ветеринарную клинику, по 10 животных в каждой.

Первая группа животных (группа I, *n=10*) получала во время кормления добавку Ипакитине в форме порошка, которую добавляли во влажный корм в количестве 1 г – на 5 кг массы животного. Животные, включенные во вторую группу (группа II, *n=10*) получали во время кормления добавку Урдетокс в дозе 1 таблетка на 5 кг массы животного. Терапию животные обеих групп получали амбулаторно.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью компьютерной программы Microsoft office Excel (2007).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

При сборе анамнеза у животных с подозрением на ХБП владельцами отмечались частое мочеиспускание, неприятный аммиачный запах из ротовой полости, постоянная жажда, вялость, снижение аппетита, рвота более 2–3 раз в неделю, потерю в массе.

В ходе общего осмотра были отмечены: тусклость шерстного покрова, бледность слизистых оболочек, угнетение и слабость, снижение тургора кожи, сниженный индекс массы тела, уменьшение почек в размере. Измерение артериального давления свидетельствовало о повышении верхнего кровяного давления до 150 мм. рт. ст. – 170 мм. рт. ст. (при норме 105 мм. рт. ст. – 135 мм. рт. ст.). Температура тела оставалась в пределах нормы (37,8 ºС – 39,2 ºС). УЗИ почек обследуемых животных позволило исключить опухолевые процессы. В ходе биохимического исследования мочи и сыворотки крови были установлены значительные отклонения от референсных значений ключевых при ХБП показателей (табл. 1–2).

Применение кормовых добавок начинали после купирования обострения ХБП посредством симптоматической, патогенетической и заместительной терапии, проводимых в течение 7 суток. При этом всех экспериментальных животных переводили на лечебный корм Hill's k/d. На восьмой день от обращения владельцев в клинику (1 день эксперимента) начинали применение исследуемых кормовых добавок. Данные, полученные по результатам общего анализа мочи в выделенных группах животных представлены в табл. 1.

В ходе проведенных исследований было установлено, что в обеих группах до начала применения кормовых добавок плотность мочи была ниже среднего референсного значения на 2,4%. На 30 день применения как Ипакитине, так и Урдетокса плотность мочи нормализовалась в обеих экспериментальных группах животных. К окончанию эксперимента увеличилось значение pH, которое было ниже нормы почти на 20% в первой группе и на 20,6% во второй группе животных.

Содержание белка в моче животных, потреблявших Ипакитине практически нормализовалось на 21 день эксперимента, во второй группе, получавших Урдетокс содержание белка соответствовало референсному значению уже на 14 день применения кормовой добавки. Переходный эпителий не обнаруживался в пробах животных второй группы на 30 день эксперимента, тогда как в моче группы животных, получавших Ипакитине еще встречались единичные случаи содержания переходного эпителия. Уменьшение количества эритроцитов и цилиндров наблюдалось в пробах мочи животных

обеих групп примерно с одинаковой интенсивностью.

Результаты биохимического исследования сыворотки крови (табл. 2) в экспериментальных группах животных свидетельствовали о том, что в день начала эксперимента у животных обеих групп наблюдалось превышение уровня мочевины в 1,5 раза от максимально допустимого значения в первой группе и в 1,4 раза во второй группе. Значения креатинина превышали максимально допустимые значения в сыворотке крови у животных обеих групп более, чем в 2 раза.

Таблица 1 – Результаты общего анализа мочи в выделенных группах животных на фоне применения кормовых добавок

Определяемый показатель	сутки наблюдения	Референсные значения	Группа животных I, m±Δm	Группа животных II, m±Δm
плотность, г/л	1	1,010–1,040	1,000±0,002	1,000±0,001
	7		1,000±0,002	1,008±0,002
	14		1,004±0,002	1,010±0,001
	21		1,006±0,001	1,010±0,002
	30		1,010±0,002	1,010±0,002
pH	1	5,5 –7,0	5,02±0,01	4,96±0,03
	7		5,06±0,04	4,98±0,01
	14		5,12±0,08	5,20±0,02
	21		5,22±0,06	5,34±0,01
	30		5,34±0,08	5,46±0,03
прозрачность	1	прозрачная	мутная	мутная
	7		мутная	мутная
	14		мутная	прозрачная
	21		мутная	прозрачная
	30		прозрачная	прозрачная
белок, г/л	1	<0,1 мг/дл	0,42±0,03	0,44±0,05
	7		0,36±0,05	0,20±0,05
	14		0,29±0,04	0,10±0,03
	21		0,10±0,05	0,09±0,02
	30		0,10±0,03	0,02±0,01
эпителий (в поле зрения)	1	0	5,10±0,23	5,10±0,53
	7		4,10±0,23	2,40±0,37
	14		3,10±0,23	1,70±0,35
	21		2,90±0,23	0,50±0,38
	30		1,20±0,30	–
эритроциты (в поле зрения)	1	0–3	2,80±0,56	3,80±0,74
	7		1,80±0,30	2,10±0,63
	14		1,70±0,35	1,70±0,48
	21		1,60±0,37	1,40±0,37
	30		1,30±0,35	1,30±0,35
цилиндры (в поле зрения)	1	0–1	1,20±0,30	1,30±0,35
	7		1,30±0,35	1,30±0,35
	14		1,20±0,30	1,20±0,30
	21		1,10±0,23	1,10±0,23
	30		0,75±0,35	0,50±0,38

Таблица 2 – Динамика биохимических показателей сыворотки крови у кошек с ХБП на фоне применения кормовых добавок

Определяемый показатель	Референсные значения	Сутки наблюдения	Кормовая добавка	
			Группа животных I, m±Δm	Группа животных II, m±Δm
Мочевина, ммоль/л	3,5-12	1	18,1 ± 1,5	17,4 ± 0,3
		7	16,3±0,9	12,3±0,5
		14	14,6 ± 0,6	12,2 ± 0,8
		21	12,9±0,2	11,7±0,6
		30	11,8 ± 0,4	10,2 ± 0,8
Креатинин, мкмоль/л	44-160	1	370,4 ± 8,6	373,2 ± 10,9
		7	314,2±6,5	266,4±8,2
		14	262,8 ± 5,3	264,8 ± 6,1
		21	249,4±8,4	151,4±6,3
		30	163,1 ± 5,2	143,1 ± 4,8
Аланинаминотрансфераза (АЛТ), Ед/л	10–85	1	93,6± 1,6	98,3± 4,8
		7	92,8± 1,8	92,6± 2,6
		14	90,8± 4,5	86,8± 3,4
		21	89,7± 2,7	81,5± 3,8
		30	85,4± 3,6	71,3± 2,2
Аспартатамино-трансфераза (АСТ), Ед/л	10-56	1	67,6± 3,5	68,2± 2,1
		7	65,4± 4,5	61,5± 0,8
		14	63,2± 3,2	59,8± 3,3
		21	60,8± 2,1	47,6± 2,8
		30	58,3± 2,2	44,3± 4,4
Щелочная фосфотаза, Ед/л	10–92	1	107,1± 3,1	112,2± 4,6
		7	110,4± 6,4	110,2± 4,2
		14	98,9± 1,8	110,5± 3,0
		21	96,8± 3,3	90,4± 2,1
		30	92,5± 2,8	82,2± 1,8
Фосфор, ммоль/л	0,9-2,5	1	2,6 ± 0,1	2,6 ± 0,1
		7	2,4±0,2	2,4±0,2
		14	2,1 ± 0,2	2,1 ± 0,1
		21	1,8 ± 0,2	1,7 ± 0,3
		30	1,5±0,1	1,4±0,2
Кальций ммоль/л	1,9-2,6	1	1,9±0,2	2,2±0,2
		7	1,9±0,2	1,9±0,2
		14	2,1±0,1	1,9±0,1
		21	2,1±0,2	2,1±0,2
		30	2,5±0,2	2,2±0,2
Калий, ммоль/л	3,5-5,3	1	3,1±0,1	3,1±0,1
		7	2,9±0,4	3,3±0,1
		14	3,0±0,1	4,2±0,2
		21	3,1±0,2	4,6±0,1
		30	3,1±0,2	4,4±0,1

Определяемый показатель	Референсные значения	Сутки наблюдения	Кормовая добавка	
			Группа животных I, m±Δm	Группа животных II, m±Δm
Натрий, ммоль/л	142-158	1	171,3 ± 10,9	171,3 ± 10,9
		7	172,2±9,6	168,2±6,4
		14	172,6±1,8	152,6±4,8
		21	170,4±1,9	153,4±5,3
		30	168,3±10,1	148,3±5,1

Следует отметить, что в первой группе животных нормализация содержания в сыворотке крови мочевины произошла на 14 день приема кормовой добавки, а уровень креатинина в сыворотке крови животных этой же группы пришел в норму на 21 день эксперимента, в отличие от этих же показателей у животных первой группы, у которых максимально допустимые значения данных показателей были определены лишь на 30 день эксперимента. Примерно такая же закономерность наблюдалась в динамике содержания в сыворотке крови экспериментальных животных ферментов (табл. 2). Поскольку ХБП у кошек сопровождается вовлечением гепеторенальной системы, [6], в сыворотке крови животных в первый день эксперимента было определено завышенное содержание ферментов аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и щелочной фосфатазы превышая средние уровни референсных значений в 1,75/2,36/1,92 раза в первой группе и в 1,87/2,06/2,20 раза во второй группе, соответственно.

Таблица 3 – Результаты опроса владельцев кошек с III стадией ХБП о состоянии животных на фоне применения кормовых добавок

Показатель	Группа I	Группа II
Удобство в скармливании добавки	При перемешивании с кормом при полном отсутствии аппетита на начальном этапе терапии наблюдалось появление постороннего запаха. Отказ животными от потребления корма (80% опрошенных). Попытка принудительного потребления кормовой добавки сопровождается обильным слюнотечением (90% опрошенных), рвотой (30% опрошенных).	Применение кормовой добавки удобно при закладывании таблетки на корень языка. При выплевывании таблетки возможна повторная попытка. Слюнотечения и рвоты не наблюдается (100% опрошенных)
Желание потребления корма	Слабо выражено (100% опрошенных)	Выражено, начиная с 7 дня применения кормовой добавки.
Наличие рвоты и рвотных позывов	Не реже 3 раз в первые 7 дней приема добавки (70% опрошенных); не реже 2 раз в неделю (7 – 21 день эксперимента) – 50% опрошенных; 1 раз – 21–30 день эксперимента (100% опрошенных)	Не реже 3 раз в первые 7 дней приема добавки (70% опрошенных); в период 7 – 30 день – 1 раз (30% опрошенных)
Общее состояние животного	Шерсть тусклая, отсутствие активности (80% опрошенных) на протяжении всего периода наблюдения	Начиная с 14 дня наблюдения шерсть гладкая, блестящая, животное меньше спит, во время бодрствования активно

Значительные отличия между показателями в экспериментальных группах наблюдались в концентрациях натрия и калия. Так, если во второй группе животных концентрация натрия уменьшилась со значения 171,3±10,9 ммоль/л до концентрации 148,3±5,1 ммоль/л, а концентрация калия увеличилась со значений минимальных границ нормы до 4,4±0,1 ммоль/л, то в первой группе животных концентрация и калия, и натрия оставались на одном уровне как в начале, так и в конце эксперимента, что может быть связано с фармакологической активностью таурина. Практически одинаковая динамика содержания неорганического фосфора наблюдалась в обеих группах – снижение практически в 2 раза, по сравнению, с начальными значениями (табл. 2). Концентрация кальция имела постоянную тенденцию к увеличению у животных первой группы, тогда как во второй группе данный показатель оставался стабильным на протяжении всего эксперимента. На протяжении эксперимента летальных случаев отмечено не было.

Таким образом, полученные в ходе исследования результаты свидетельствуют о том, что применение лечебного корма в комплексе с кормовыми добавками в течение 30 дней эксперимента устраняли проявления ХБП в виде гиперфосфатемии.

Поскольку паллиативную терапию животные получали амбулаторно, нами проводился опрос владельцев животных, по субъективной оценке, влияния кормовых добавок на состояние их питомцев (табл. 3).

ВЫВОДЫ / CONCLUSIONS

В ходе проведенных исследований было установлено постепенное устранение проявлений ХБП у кошек с третьей степенью патологии. Однако следует отметить, что применение кормовой добавки Урдетокс в форме таблеток представляется более эффективным, поскольку нормализация биохимических и клинических показателей происходила раньше, чем в группе животных I, что, по-видимому, связано с полнотой и равномерностью дозирования, не связанной с желанием потребления корма животным.

EFFECTIVENESS OF FEED ADDITIVES IN CHRONIC KIDNEY DISEASE IN CATS

Fedotkina S.N.* – Candidate of Veterinary Sciences, **Shinkarenko A.N.** – Doctor of Veterinary Science, Professor, **Strusovskaya O.G.** – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor.

Volgograd State Medical University

*dyshansveta@mail.ru

ABSTRACT

Chronic kidney disease in cats is one of the most common diseases. The main direction of palliative therapy for chronic kidney disease and extending the survival time of cats is to limit phosphates in the diet and normalize the phosphorus content in the animal's body. In order to reduce phosphates, phosphate binders are used - substances whose mechanism of action is to bind excess phosphate ions in the gastrointestinal tract, which prevents their entry into the bloodstream. The purpose of the study is to analyze the effectiveness of feed additives "Urdetox" and "Ipakitine" in a comparative aspect in the palliative treatment of chronic kidney disease in cats. Determination of the biological activity of the proposed feed additive for cats with CKD in the form of tablets was carried out on the basis of veterinary clinics in the city. Volgograd, St. Petersburg, Moscow, in the period 2021-2022. The objects of the study were cats whose owners complained of loss of animal body weight, often a general depressed state, decreased appetite, periodic vomiting, frequent urination, dull hair. The diagnosis and experiment were carried out by collecting anamnestic data, determining clinical signs and laboratory data - a general urine test and a biochemical analysis of blood serum. Studies have shown that feed additives containing a phosphate binder and a detoxicant help eliminate the main clinical manifestations of chronic renal failure. The introduction of the essential amino acid - taurine into the feed additive in the form of Urdetox tablets, as well as

the accuracy of dosing and ease of use increase the effectiveness of its biological action.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Ерлепесова П. М., Максудова М. Х., Мухиддинова Н. З. Изучение мембранопротекторной эффективности препарата таурин в клинических условиях // Биология и интегративная медицина. – 2017. – №. 2. – С. 34-41.
2.Коба, И. С., Лифенцова, М., Новикова, Е. Н., & Глущенко, С. Г. Анализ проявлений мочекаменной болезни у кошек // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2018. – №. 135. С. 1-11
3.Ларионова О. С.] и др. Использование хитозана в комплексной терапии хронической почечной недостаточности у кошек и собак //Кролиководство и звероводство. – 2017. – №. 6. – С. 25-28.
4.Плавских О. В., Дегтярёва Е. О., Копылович М. В. Применение фосфатбиндеров при хронической почечной недостаточности у кошек // Актуальные проблемы ветеринарной науки и практики. – 2021. – С.166-169.
5.Рядчикова О. Л. Особенности потребности кошек в питательных веществах // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2020. – №. 163. – С. 1-22.
6.Ушакова Т. М., Дерезина Т. Н. Корреляция морфофункциональных расстройств гепаторенальной системы и уровня редокс-гомеостаза при хронической почечной недостаточности у кошек // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2021. – №. 4 (52). – С. 20-27.
7.Anraku M. et al. Effects of chitosan on oxidative stress and related factors in hemodialysis patients //Carbohydrate polymers. – 2014. – Т. 112. – С. 152-157.
8.ISFM Consensus Guidelines on the Diagnosis and Management of Feline Chronic Kidney Disease // J. Feline Med. Surg. – 2016. – Vol. 18. – P. 219–239.
9.Ripps H., Shen W. taurine: a “very essential” amino acid //Molecular vision. – 2012. – Т. 18. – С. 2673.

REFERENCES

1. Yerlepesova P. M., Maksudova M. H., Mukhiddinova N. Z. Studying the membrane -protective efficacy of taurine in clinical conditions //Biology and integrative medicine. - 2017. – No. 2. – pp. 34-41.
2. Koba, I. S., Lifentsova, M., Novikova, E. N., & Glushchenko, S. G. Analysis of manifestations of urolithiasis in cats // Polythematic online electronic scientific journal of the Kuban State Agrarian University. – 2018. – No. 135. pp. 1-11
3. Larionova O. S.] and others. The use of chitosan in the complex therapy of chronic renal failure in cats and dogs //Rabbit breeding and animal husbandry. – 2017. – №. 6. – Pp. 25-28.
4. Plavskikh O. V., Degtyareva E. O., Kopylovich M. V. The use of phosphate binders in chronic renal failure in cats // Actual problems of veterinary science and practice. – 2021. – pp. 166-169.
5. Ryadchikova O. L. Peculiarities of cats' nutritional needs //Polythematic online electronic scientific journal of the Kuban State Agrarian University. - 2020. – No. 163. – pp. 1-22.
6. Ushakova T. M., Derezina T. N. Correlation of morphofunctional disorders of the hepatorenal system and the level of redox homeostasis in chronic renal failure in cats // Current issues of veterinary biology. – 2021. – №. 4 (52). – Pp. 20-27.
7. Anraku M. et al. The effect of chitosan on oxidative stress and related factors in hemodialysis patients //Carbohydrate polymers. - 2014. – vol. 112. – pp. 152-157.
8. ISFM consensus recommendations for the diagnosis and treatment of chronic kidney disease in cats // J. Feline Med. Surgery. - 2016. – Volume 18. – pp. 219-239.
9. Ripps H., Shen W. taurine: a “very essential” amino acid //Molecular vision. – 2012. – vol. 18. – p. 2673.

УДК: 619:616-07(08):616.6
DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.515

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТАБОЛИЗМА И ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У КОШЕК С ТРИПЕЛЬФОСФАТНЫМ УРОЛИТИАЗОМ

Ушакова Т.М.[1*] – канд. ветеринар. наук, доц., зав. каф. терапии и пропедевтики (ORCID0000-0002-8634-268X); **Дерезина Т.Н.**[2] – д-р ветеринар. наук, проф., зав. каф. биологии и общей патологии (ORCID - 0000-0002-5361-6656); **Чичиленко В.С.**[1] – асп. (ORCID - 0009-0006-0425-7200)

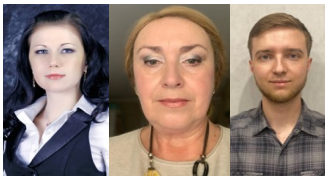
[1] ФГБОУ ВО «Донской государственный аграрный университет»
[2] ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет»

*tanja_0802@mail.ru

***Ключевые слова**:* морфофункциональные нарушения, уролитиаз, кошки, антиоксидантные ферменты, неферментативные антиоксиданты крови, трансаминазы печени, циркулирующие биомаркеры почек.

Key words: morphofunctional disorders, urolithiasis, cats, antioxidant enzymes, non-enzymatic blood antioxidants, liver transaminases, circulating kidney biomarkers.

Поступила: 16.10.2023 **Принята к публикации: 17.11.2023**
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Мочекаменная болезнь – хроническое заболевание мочевыводящих путей полиэтиологической природы, сопровождающееся образованием в почках и мочевых путях уролитов и песка, а также признаками дизурии, поллакиурии, ишурии, мочевыми коликами, периодической гематурией и кристаллурией. Целью наших исследований являлось изучение метаболизма и функционирования антиоксидантной системы у кошек с трипельфосфатным уролитиазом. Полученные нами результаты исследования метаболизма и антиоксидантной системы больных животных свидетельствовали о развитии расстройств редокс-регуляции клеток при трипельфосфатномуролитиазе у кошек. Было выявлено расстройство функциональной активности печени (AST - 41,74±5,35 Ед/л и 49,30±6,74 Ед/л; ALT - 85,82±6,15 Ед/л и 90,05±6,50 Ед/л; ALKP - 45,61±3,10Ед/л и 48,16±2,86Ед/л; BILT - 5,76±0,15мкмоль/л и 6,08±0,24мкмоль/л; BILD - 1,40±0,03мкмоль/л и1,62±0,02мкмоль/л; AAR – 0,49±0,03 и 0,54±0,02) и нарушение редокс-регуляции клеток (MDA - 1,29±0,08 нмоль/мл и 1,40±0,10 нмоль/мл; SOD - 265,90±12,08 Ед/мл и 280,05±10,43 Ед/мл; коэнзим Q10 - 579,03±19,06 нг/мл и 505,42±23,10 нг/мл;8-OHdG - 0,15±0,01 нг/мл в и 0,13±0,02нг/мл; аскорбиновая кислота - 5,03±0,91 мкг/мл и 4,70±1,03 мкг/мл; TAS - 1,25±0,07 ммоль/л и 1,23±0,05 ммоль/л; GTP - 6234,00±24,82 Ед/г Hb и 6015,12±27,56Ед/г Hb) у кошек, больных трипельфосфатным уролитиазом. Было установлено наличие прямой тесной коррелятивной связи между уровнем трансаминаз печени и активностью

антиоксидантных ферментов, а также между уровнем циркулирующих биомаркеров почек и уровнем основных маркеров оксидативного стресса при мочекаменной болезни струвитного типа у кошек, что позволяет расширить понимание данного заболевания и использовать эти данные при осуществлении лечебных мероприятий.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Мочекаменная болезнь – хроническое заболевание мочевыводящих путей полиэтиологической природы, сопровождающееся образованием в почках и мочевых путях уролитов и песка, а также признаками дизурии, поллакиурии, ишурии, мочевыми коликами, периодической гематурией и кристаллурией [1-5]. Способствующими факторами литогенеза при мочекаменной болезни у кошек является полигиповитаминозы, инфекции мочевых путей, употребление в пищу кормов, способствующих перенасыщению мочи солями, недостаточное потребление воды, нарушение акта мочеиспускания, задержка мочи, изменение реакции мочи[6-10]. Доказано, что манифестация уролитиаза у кошек зависит от формы, размера, локализации химического состава уролита, формирующегося в нижних отделах мочевыводящих путей. В большинстве случаев число камнеобразующих минералов не превышает трех, остальные минералы обнаруживаться в виде примесей [11-17]. В связи с тем, что мочекаменная болезнь является одним из самых сложных заболеваний, как для выбора методов терапевтической коррекции, так и в прогностическом аспекте [19-20], а формирующиеся морфофункциональные нарушения почек оказывают влияние на состояние всего организма, следовательно, решение данной проблемы требует своевременного и выверенного алгоритма диагностики.

Исходя из вышеизложенного, трипельфосфатный уролитиаз у кошек является важной проблемой ветеринарной урологии, а изучение характера метаболизма и функционирования антиоксидантной системыпри данной патологии является актуальным направлением в условиях современной клинической ветеринарной практики.

Целью наших исследований являлосьизучение метаболизма и функционирования антиоксидантной системы у кошек с трипельфосфатным уролитиазом. Для чего были поставлены следующие задачи: изучить клинический статус подопытных животных, оценить характер биохимических изменений в сыворотке крови, исследовать показателиантиоксидантной системыу животных экспериментальных групп.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Научный эксперимент была осуществлен в 2023 году на кафедре терапии и пропедевтики ФГБОУ ВО «Донской государственный аграрный университете» и в ветеринарной клинике ООО «Ветеринарный центр № 1» (ул. Энгельса, 51, г. Батайск, Ростовская обл.).

Объектом исследований были двадцать кошек, больных мочекаменной болезнью с признаками трипельфосфатного цистолитиаза, в возрасте от восьми до десяти лет. Критерии включения животных в опытные группы: результаты клинического исследования, ультрасонографические и лабораторные признаки уролитиазаструвитного типа.

Критерии исключения: рецидив струвитного уролитиаза, мочекаменная болезнь оксалатного типа, мочекаменная болезнь уратного типа, новообразования мочевыводящих путей, идиопатический цистит, хронические заболевания почек, патологии печени различной этиологии.

Анамнез жизни (anamnesisvitae) животных: ежегодная вакцинация, обработка от экзо- и эндопаразитов каждые 4 месяца. Кормление двух-трехразовое, без соблюдения режима питания, без нормирования по количеству калорий. Поение водойиз-под крана, без нормирования по количеству потребленной воды.

Анамнез болезни (anamnesismorbi): первые признаки болезни регистрировались за 3-5 дней до обращения в ветеринарную клинику, при этом регистрировалось наличие учащённых болезненных попыток к мочеиспусканию, сопровожда-

ющихся беспокойством. В лотке наблюдались следы крови. До обращения в ветеринарную клинику животным не проводилось лечение.

Акустическая картина печени животных из опытных групп на момент поступления в ветеринарную клинику характеризовалась гиперэхогенностью капсулы с удовлетворительной дифференциацией, паренхима органа была гиперэхогенная и неоднородная. Эхоструктура полости мочевого пузыря была неоднородная, в ней регистрировалось наличие гиперэхогенной взвеси. Стенка мочевого пузыря у подопытных кошек была утолщена. У трех котов из опытной 2-й группы были выявлены признаки правостороннего нефролитиаза (акустическая картина правой почки: кортико-медуллярная дифференциация не сохранена, расширение чашечной системы, в просвете лоханки - гиперэхогенное содержимое размером 0,7±0,05см на 0,5±0,05 см с четкими границами, дающее акустическую тень).

Моча больных животныхв момент поступления в ветеринарную клинику характеризовалась развитием гиперстенурии (относительная плотность мочи (SG) - 1,044±0,003 кг/л (P< 0,001) и 1,049±0,002 кг/л (P< 0,001)), смещением реакции мочи в щелочную сторону (pH - 7,56±0,20 ед. pH и 7,47±0,19 ед. pH), снижением концентрации аскорбиновой кислоты в моче (8,16±0,75 мг/дл и 10,00±0,90 мг/дл), гематурией (кровь – 184,30±5,03 мг/дл и 200,07±6,12 мг/дл), протеинурией (белок мочи - 250,90±5,90 мг/дл и 300,05±7,02 мг/дл, альбумин - 96,21±4,38 мг/л и 104,07±5,09 мг/л), лейкоцитурией (лейкоциты– 15,43±1,35 в поле зрения и 19,20±1,60 в поле зрения,микрогематурией (эритроциты – 21,40±1,50 в поле зрения и 25,20±1,8 в поле зрения),кристаллурией (трипельфосфаты в поле зрения (+++) и трипельфосфаты в поле зрения (+++)) и бактериурией (кокки (++) и кокки (++)). Отмечалось наличие организованного осадка мочи у подопытных животных: клетки многослойного плоского неороговевающего эпителия -1,00±0,03в поле зрения и 1,20±0,05в поле зрения; клетки переходного эпителия - 10,50±1,40в поле зрения и 14,20±1,50в поле зрения; клетки почечного эпителия - 0,40±0,02в поле зренияи 0,55±0,03в поле зрения. Физико-химические исследования мочи проводили на мочевом анализаторе «US-500 Vet», микроскопию осадка осуществляли с помощью светового микроскопа «Levenchuk 400T» при увеличении х400.

Из подопытных по принципу пар-аналогов были сформированы две экспериментальные группы – опытная 1-я и опытная 2-я. В опытную 1-ю группы были отобраны беспородные кошки массой тела 3,0 ± 0,3 кг, а в опытную 2-ю – беспородные кастрированные коты массой тела 4,5 ± 0,43 кг. Каждая подопытная группа включала в себя по десять больных животных. В контрольную группу были включены десять клинически здоровых беспородных кошек обоих полов с массой тела 3,0-4,3 кг. Постановку диагноза осуществляли на основании результатов клинического, морфологического, биохимического исследования крови, данных клинического исследования мочи и результатов ультрасонографических исследований урогенитального тракта.

Биохимический анализ сыворотки крови проводили с помощью стандартных тест-систем на автоматическом биохимическом анализаторе «Mindray BS-240 Vet». Перечень исследований включал следующие показатели: общий белок, альбумин, глобулины, креатинин, мочевина, билирубин общий, билирубин прямой, триглицериды, мочевая кислота, аспартатаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, щелочная фосфатаза, а-амилаза, глюкоза, лактатдегидрогеназа, гамма-глутамилтранспептидаза, холестерин. Высчитывали соотношение AST/ ALT (коэффициент Ритиса, AAR) и альбумин/глобулин (A/G).

С целью оценкифункционирования антиоксидантной системы у подопытных животных учитывали в крови: уровень малонового диальдегида – MDA (метод высокоэффективной жидкостной хроматографии), супероксиддисмутазы – SOD

(метод спектрофотометрии), коэнзима Q10 (методом жидкостной хроматографии), глутатиона, 8-OH-дезоксигуанозина - 8-OHdG(метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией), витамина С (методом жидкостной хроматографии), бета-каротина (методом жидкостной хроматографии), витамина Е (методом жидкостной хроматографии), общего антиоксидантного статуса - TAS (метод высокоэффективной жидкостной хроматографии), глутатионпероксидазы – GTP (методом жидкостной хроматографии).

Обработку результатов исследований проводили методом вариационной статистики с использованием интегрированной системы для комплексного статистического анализа и обработки данных в системе WindowsSTATISTICA, с использованием критерия Стьюдента по правилам вариационной статистики.Оценку взаимосвязи между изучаемыми параметрами осуществляли на основании расчета критерий корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Данные клинического обследования подопытных животных обеих групп свидетельствовали о развитии уродинамических нарушений, сопровождающихся синдромом интоксикации и дегидратации. У шести кошек отмечались признаки однократной рвоты, угнетения и атаксии, у двух животных регистрировались развитие гипорексии, у одной особи были выявлены симптомы диареи у пяти особей.

Частота дыхательных движений у обследуемых особей была в пределах референтного интервала и составляла в первой экспериментальной группе 30,10±2,00 дых.дв./мин, во второй – 30,60±1,50 дых.дв./мин. Частота сердечных сокращений у кошек опытной 1-й группы равнялась 126,10±2,00 уд./мин, опытной 2-й – 127,50±1,50 уд./мин. Температура тела животных из опытной 1-й группы была 38,90±0,50° С, а из опытной 2-й - 39,20±0,40°С. В контрольной группе температура тела составляла 38,50±0,50° С, частота дыхательных движений - 24,50±1,00 дых.дв./мин, пульс - 120,50±2,50 уд./мин.

Данные пищевого анамнеза пациентов свидетельствовали о том, что одной из причин развития трипельфосфатного уролитиаза у кошек было применение рациона с пониженной усвояемостью и недостаточной калорийностью, а также нарушение режима питания. Такое кормление в течение длительного времени способствовало перееданию и привело к избытку минеральных веществ, однако развитие гипомагниемии может быть обусловлено потерей этого микроэлемента вследствие развития диареи, и приема витаминно-минеральной добавки «Кальцемид», содержащей в своем составе помимо магния и кальций, который конкурирует с магнием при абсорбции в кишечнике.

У кошек обеих подопытных групп было выявлено достоверное повышение уровня циркулирующих биомаркеров почек, что указывало на развитие острой постренальной уремии (табл.1). При этом уровень мочевины у кошек из первой экспериментальной группы в 1,97 раза (P< 0,001) превышал показатель клинически здоровых животных из контрольной группы, а у животных из второй экспериментальной группы – в 2,29 раза (P< 0,001) соответственно, креатинина – в 1,24 раза (P< 0,01) и 1,30 раза (P< 0,001) и мочевой кислоты – в 1,95 раза (P< 0,001) и 2,07 раза (P< 0,001) по группам соответственно.

У больных животных отмечалось повышение уровня общего белка на 10,22 % (P< 0,001) из 1-й группы и на 19,19 % (P< 0,001) - из 2-й группы по сравнению с показателем клинически здоровых животных, а (табл. 1). Выявленные достоверные изменения фракционного состава белка сыворотки крови у животных обеих групп (GLB - 54,91±3,37 г/л и 59,83±2,90 г/л; A/G – 0,52±0,02 и 0,44±0,01).

Таблица 1 – Уровень метаболической активности сыворотки кровиу кошек экспериментальных групп

Показатели	Группа животных						
	Опытная 1-я (n = 10)			Опытная 2-я (n = 10)			Референтный интервал
							Контрольная (n = 10)
	X±Sx	maxX	minX	X±Sx	maxX	minX	X±Sx
Аспартатаминотрансфераза (AST), Ед/л	41,74±5,35*	47,08	36,40	49,30±6,74*	56,04	42,56	9,00 - 45,00
							26,49±4,71
Аланинаминотрансфераза (ALT), Ед/л	85,82±6,15***	91,97	79,67	90,05±6,50***	96,58	83,55	18,00 - 79,00
							46,17±3,90
Билирубин общий (BILT), мкмоль/л	5,76±0,15	5,94	5,61	6,08±0,24*	6,32	5,84	2,00 - 10,00
							4,67±0,56
Билирубин прямой (BILD), мкмоль/л	1,40±0,03*	1,43	1,36	1,62±0,02	1,67	1,60	0,00 - 5,50
							1,61±0,09
Мочевина (UREA), ммоль/л	14,70±1,30***	16,05	13,27	17,05±1,60***	18,65	15,45	5,40 - 12,10
							7,45±1,02
Креатинин (CREA), мкмоль/л	173,90±6,06**	180,90	167,20	182,30±7,54***	189,90	174,05	70,00 - 165,00
							139,84±7,38
Общий белок (T-Pro), г/л	83,70±3,11**	86,90	79,38	86,21±4,70**	90,91	81,49	54,00 - 79,00
							63,18±5,30
Альбумин (ALB), г/л	28,79±2,15	30,95	26,60	26,38±3,08	29,79	23,30	24,00 - 38,00
							33,18±2,94
Глобулины (GLB), г/л	54,91±3,37**	58,28	54,60	59,83±2,90***	62,73	56,90	30,00 - 41,00
							36,05±3,74
Белковый коэффициент (A/G)	0,52±0,02***	0,54	0,50	0,44±0,01***	0,45	0,43	0,60 - 1,30
							0,75±0,03

Показатели	Группа животных						
	Опытная 1-я (n = 10)			Опытная 2-я (n = 10)			Референтный интервал
							Контрольная (n = 10)
	X±Sx	maxX	minX	X±Sx	maxX	minX	X±Sx
Щелочная фосфатаза (ALKP), Ед/л	45,61±3,10***	48,90	42,50	48,16±2,86***	51,20	41,67	0,00 – 55,00
							27,04±2,75
а-амилаза (AMY), Ед/л	1524,70±27,50***	1552,40	1495,3	1690,40±24,69***	1715,09	1665,01	500,00 - 1200,00
							839,60±12,10
Глюкоза (GLU), ммоль/л	3,14±0,20**	3,35	2,96	2,87±0,15***	3,02	2,71	3,30 - 6,30
							4,79±0,39
Лактатдегидрогеназа (LDH), Ед/л	215,47±10,30***	225,79	204,98	219,04±9,27***	229,03	209,60	35,00 – 220,00
							147,12±8,35
Гамма-глутамилтранспепти-даза (GGT), Ед/л	6,67±1,01**	7,68	5,66	7,90±0,90***	8,80	7,0	0,00 - 8,00
							3,80±0,30
Холестерин (CHOL), ммоль/л	3,79 ±0,37*	4,16	3,42	4,02±0,20***	4,22	3,78	1,60 - 3,90
							2,65±0,23
Триглицериды (TG), ммоль/л	0,97±0,02***	0,99	0,95	1,0±0,04***	1,04	0,96	0,38 - 1,10
							0,68±0,04
Мочевая кислота (URICACID), мкмоль/л	69,30±4,50***	73,90	64,78	73,48±4,83***	78,39	68,52	0,00 - 60,00
							35,40±3,70
Коэффициент Рити-са (AAR)	0,49±0,03*	0,52	0,46	0,54±0,02	0,56	0,52	-
							0,57±0,02

*Примечание: * - P< 0,05; ** - P< 0,01; *** - P< 0,001 в сравнении с показателем клинически здоровых животных (контрольная группа)*

Таблица 2 – Уровень клинико-лабораторных маркеров антиоксидантной системы у кошек экспериментальных групп

Показатели	Группа животных (n = 10)						
	Опытная 1-я (n = 10)			Опытная 2-я (n = 10)			Референтный интервал
							Контрольная (n = 10)
	X±Sx	maxX	minX	X±Sx	maxX	minX	X±Sx
Малоновыйдиальдегид (MDA), нмоль/мл	1,29±0,08**	1,37	1,21	1,40±0,10**	1,50	1,30	0,45 – 1,70
							1,05±0,06
Супероксиддисмутаза (SOD),Ед/мл	265,90±12,08**	277,98	253,82	280,05±10,43***	290,48	269,62	164,0 – 240,0
							197,85±14,71
Коэнзим Q10 в крови, нг/мл	579,03±19,06***	598,09	559,97	505,42±23,10***	528,52	482,32	433,00 – 1532,00
							976,50±25,38
Глутатион в крови, мкмоль/л	962,04±16,28	978,32	945,76	970,00±23,71	993,71	946,29	544,00 – 1228,00
							890,20±26,05
8-ОН-дезоксигуанозин в крови(8-OHdG),нг/мл	0,15±0,01*	0,16	0,14	0,13±0,02**	0,15	0,11	0,10 – 0,30
							0,21±0,02
Витамин С (аскорбиновая кислота), мкг/мл	5,03±0,91**	5,94	4,12	4,70±1,03**	5,73	3,67	4,00 – 20,00
							11,84±2,13
Бета-каротин, нг/мл	0,36±0,01	0,37	0,35	0,33±0,02	0,35	0,31	0,10 – 0,85
							0,49±0,15
Витамин Е (токоферол), мкг/мл	10,37±0,83	11,20	9,54	10,10±1,09	11,19	9,01	5,00 – 18,00
							12,34±1,52
Общий антиоксидантный статус (TAS), ммоль/л	1,25±0,07***	1,32	1,18	1,23±0,05***	1,28	1,18	1,5 – 2,8
							2,14±0,04
Глутатионпероксидаза (GTP), Ед/г Hb	6234,00±24,82***	6258,82	6209,18	6015,12±27,56***	6042,68	5987,56	4171,0 – 10881,0
							9529,40±31,59

*Примечание: * - P< 0,05; ** - P< 0,01; *** - P< 0,001 в сравнении с показателемклинически здоровых животных (контрольная группа)*

Углеводный обмен у кошек характеризовался достоверным снижением концентрации глюкозы до 3,14±0,20 ммоль/л в экспериментальной 1-й группе и до 2,87±0,15 ммоль/л – во 2-й группе. Было выявлено расстройство липидного обмена (CHOL - 3,79±0,37 ммоль/л и 4,02±0,20 ммоль/л; TG - 0,97±0,02 ммоль/л и 1,0±0,04 ммоль/л). Концентрация глюкозы у кошек из опытной 1-й группы достоверно был ниже показателя клинически здоровых животных в 1,52 раза (P< 0,01), во 2-й группе - в 1,67 раза (P< 0,001), холестерина - в 1,43 раза (P<0,01) и 1,51 раза (P<0,001), триглицеридов - в 1,42 раза (P< 0,001) и 1,47 раз (P< 0,001) по группам соответственно (табл. 1).

Активность основных трансаминаз печени у больных животных характеризовалась достоверным повышением уровня активности аспартатаминотрансферазы на 57,56 % (P< 0,05) в 1-й группе подопытных, а во 2-й группе – на 86,10 % (P< 0,05), аланинаминотрансферазы – на 85,87 % (P< 0,001) и на 95,04 % (P< 0,001) по сравнению с показателем контроля. Также у кошек из 1-й подопытной группы отмечалось возрастание уровня активности щелочной фосфатазы в 1,68 раза (P<0,001), гамма-глутамилтранспептидазы – в 1,75 раза (P< 0,01), лактатдегидрогеназы – в 1,46 раза (P< 0,001) и α-амилазы – в 1,81 раза (P< 0,001) по сравнению с показателями контрольной группы,а во 2-й группе – в 1,78 раза (P< 0,001), 2,07 раза (P< 0,001), 1,48 раза (P< 0,001) и 2,01 раза (P< 0,001) по показателям соответственно. Выраженных изменений уровня общего и прямого билирубина у животных экспериментальных групп не выявлено. Характер установленных изменений указывает на развитие воспалительного процесса в гепатобилиарной системе на фоне трипельфосфатного уролитиаза у подопытных кошек.

В целом обнаружили однонаправленные изменения изучаемых величин у подопытных животных в сравнении с показателями контрольной группы. При этом, показатели мочевины, креатинина, общего белка, альбуминовой фракции, триглицеридов, аланинаминотрансферазы и холестерина были практически идентичными у кошек из 1-й и 2-й опытных групп.

У испытуемых обеих групп отмечалось достоверное повышение уровня основного маркера оксидативного стресса – малонового диальдегида (MDA - 1,29±0,08 нмоль/мл и 1,40±0,10нмоль/мл), однако уровень 8-OH-дезоксигуанозина в крови был ниже показателя здоровых животных и составлял 0,15±0,01 нг/мл в опытной 1-й группе и 0,13±0,02нг/мл – во 2-й группе (табл. 2), что может быть обусловлено уровнем ряда антиоксидантных ферментов (глутатион – 962,04±16,28 мкмоль/л и 970,00±23,71 мкмоль/л) и неферментативных антиоксидантов крови (бета-каротин – 0,36±0,01 нг/мл и 0,33±0,02 нг/мл; токоферол – 10,37±0,83 мкг/мл и 10,10±1,09 мкг/мл). Уровень малонового диальдегида у кошек из 1-й экспериментальной группы был достоверно выше показателя контрольной группы в 1,23 раза (P< 0,01), во 2-й группе – в 1,33 раза (P< 0,01), а 8-OH-дезоксигуанозина – в 1,40 раза (P<0,05) и 1,61 раза (P<0,01) ниже по группам, соответственно.

Уровень антиоксидантных ферментов характеризовался повышением активности супероксиддисмутазы на 34,39 % (P< 0,01) и 41,54 % (P< 0,001), соответственно, в 1-й и 2-й опытных группах, и снижением уровня активности глутатионпероксидазы на 34,58 % (P< 0,001) и 36,87 % (P< 0,001), а неферментативных антиоксидантов крови – снижением уровня коэнзима Q10 на 40,70 % (P< 0,001) и 48,24 % (P< 0,001), витамина С – на 57,52 % (P< 0,001) и 60,30 % (P< 0,001) по группам, соответственно, по сравнению с показателем клинически здоровых животных (табл. 2). Общий антиоксидантный статус организма испытуемых был ниже референтных границ и составлял 1,25±0,07 ммоль/л (P<0,001) в 1-й опытной группе и 1,23±0,05 ммоль/л (P<0,001) – во 2-й группе. Полученные результаты проведенных исследований указывали на акти-

вацию антиоксидантного потенциала клетки на первых этапах расстройств редокс-гомеостазаза счет повышение уровня активности супероксиддисмутазы. Референтный уровень глютатиона на фоне снижения активности супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы подтверждает вовлечение в патологический процесс печени при мочекаменной болезни. Снижение уровня общего антиоксидантного статуса указывает на дефицит антиоксидантных ферментов и неферментативных антиоксидантов крови в организме подопытных вследствие развития воспалительного процесса в нижнем отделе мочевыводящих путей.

Полученные результаты расчета критерия корреляции Спирмена у животных 1-й экспериментальной группы указывают на наличии прямой связи между большинством исследуемых признаков, за исключением уровня мочевины и общего антиоксидантного статуса, и аспартатаминотрансферазы и уровнем и глутатионпероксидазы, где прослеживается обратная связь, а во 2-й группе была отмечена прямая коррелятивная связь между исследуемыми признаками (табл. 3). При этом у кошек из 1-й экспериментальной группы регистрировалась заметная теснота связи по шкале Чеддока между ALT и MDA, AST и MDA, CREA и MDA, AST и SOD, ALT и TAS (ρ=0,661 (p<0,05)), AST и TAS, CREA и TAS, ALT и GTP. У котов из 2-й экспериментальной группы прослеживалась высокая теснота связи по шкале Чеддока – между CREA и MDA (ρ=0,700 (p<0,05)),UREA и TAS (ρ=0,900 (p<0,05)), ALT и GTP (ρ=0,867 (p<0,05)), CREA и GTP (ρ=0,806 (p<0,05)), заметная теснота связи – между ALT и MDA (ρ=0,697 (p<0,05)), AST и MDA, UREA и MDA, ALT и SOD (ρ=0,697 (p<0,05)), CREA и SOD, CREA и TAS (ρ=0,670 (p<0,05)), AST и GTP (ρ=0,648 (p<0,05)), UREA и GTP.

Таблица 3 – Коэффициент корреляции Спирмена (ρ) между маркерами функционального состояния печени и почек и показателями антиоксидантной системы у животных экспериментальных групп (f=8)

Признак	MDA	SOD	TAS	GTP
Опытная 1-я (n = 10)				
ALT	0,600	0,333	0,661*	0,636
AST	0,600	0,636	0,552	-0,042
UREA	0,355	0,476	-0,027	0,355
CREA	0,518	0,476	0,585	0,427
Опытная 2-я (n = 10)				
ALT	0,697*	0,697*	0,318	0,867*
AST	0,552	0,236	0,336	0,648*
UREA	0,552	0,430	0,900*	0,515
CREA	0,770*	0,600	0,670*	0,806*

*Примечание: * - P< 0,05; ** - P< 0,01; *** - P< 0,001 в сравнении скритическим значении критерия Спирмена при данном числе степеней свободы, которое составляет 0,648; не выделенные цветом ячейки - слабая теснота (сила) связи по шкале Чеддока (от 0,1 до 0,3); зеленым цветом отмечена умеренная теснота (сила) связи по шкале Чеддока (от 0,3 до 0,5); желтым цветом отмечена заметная теснота (сила) связи по шкале Чеддока (от 0,5 до 0,7); оранжевым цветом отмечена высокая теснота (сила) связи по шкале Чеддока (от 0,7 до 0,9); красным цветом отмечена сильная теснота (сила) связи по шкале Чеддока (от 0,9 до 1,0).*

ВЫВОДЫ / CONCLUSIONS

Полученные результаты исследований доказывают наличие взаимосвязи между уровнем трансаминаз печени и активностью антиоксидантных ферментов, а также между уровнем циркулирующих биомаркеров почек и уровнем основных маркёров оксидативного стресса у кошек, больных трипельфосфатным уролитиазом. Полученные результаты исследования антиоксидантного статуса свидетельствуют о развитии оксидативного стресса при трипельфосфатном уролитиазе у кошек, что позволяет расширить понимание данного заболевания и использовать эти данные в лечении.

STUDY OF METABOLISM AND FUNCTIONING OF THE ANTIOXIDANT SYSTEM IN CATS WITH TRIPELPHOSPHATE UROLITHIASIS

Ushakova T.M.[1] – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Therapy and Propaedeutics, (ORCID 0000-0002-8634-268X); **Derezina T.N.**[2] **–** Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Head of the Department of Biology and General Pathology, (ORCID 0000-0002-5361-6656); **Chichilenko V.S.**[1] **–** 2nd year graduate student, (ORCID 0009-0006-0425-7200).

[1]Don State Agrarian University

[2]Don State Technical University

*tanja_0802@mail.ru

ABSTRACT

Urolithiasis is a chronic disease of the urinary tract of a polyethological nature, accompanied by the formation of uroliths and sand in the kidneys and urinary tract, as well as signs of dysuria, pollakiuria, ischuria, urinary colic, periodic hematuria and crystalluria. The purpose of our research was to study the metabolism and functioning of the antioxidant system in cats with tripelphosphate urolithiasis. The results of our study of the metabolism and antioxidant system of sick animals indicated the development of disorders of redox regulation of cells in tripelphosphate erythrolithiasis in cats. A disorder of liver functional activity was detected (AST - 41.74±5.35 Units/l and 49.30±6.74 Units/L; ALT - 85.82□6.15 Units/l and 90.05□6.50 Units/L; ALKP - 45.61□3.10Units/L and 48.16□2.86Units/L; BILT - 5.76□0.15mmol/l and 6.08□0.24 mmol/l; BILD - 1.40□0.03 mmol/l and 1.62 □0.02mmol/L; AAR – 0.49±0.03 and 0.54±0.02) and violation of cell redox regulation (MDA - 1.29±0.08 nmol/ml and 1.40±0.10 nmol/ml; SOD - 265.90±12.08 Units/ml and 280.05±10.43 Units/ml; coenzyme Q10 - 579.03±19.06 ng/ml and 505.42±23.10 ng/ml;8-OHdG - 0.15±0.01 ng/ml and 0.13±0.02ng/ml; ascorbic acid - 5.03±0.91 mcg/ml and 4.70±1.03 micrograms/ml; TAS - 1.25±0.07 mmol/l and 1.23±0.05 mmol/L; GTP - 6234.00±24.82 Units/g Hb and 6015.12±27.56units/g Hb) in cats with tripelphosphate urolithiasis. It was found that there is a direct close correlation between the level of liver transaminases and the activity of antioxidant enzymes, as well as between the level of circulating kidney biomarkers and the level of the main markers of oxidative stress in urolithiasis struvite type in cats, which allows us to expand the understanding of this disease and use these data in the implementation of therapeutic measures.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Vona, R., Pallotta, L., Cappelletti, M., Severi, C., Matarrese, P. The Impact of Oxidative Stress in Human Pathology: Focus on Gastrointestinal Disorders. Antioxidants. 2021;10: 201. https://doi.org/10.3390/antiox10020201

2.Zuo, L., Prather, E.R., Stetskiv, M., Garrison, D.E., Meade, J.R., Peace, T.I., Zhou, T. Inflammaging and oxidative stress in human diseases: From molecular mechanisms to novel treatments. Int. J. Mol. Sci. 2019;20:4472. https://doi.org/10.3390/ijms20184472

3.Соболев В.Е. Нефрология и урология домашней кошки Российский ветеринарный журнал. Мелкиедомашниеидикиеживотные. 2011; 1: 35-40.

4.Knoll, T., Schönthaler, M. & Neisius, A. Urolithiasis. Urologe. 2019; 58:1271. https://doi.org/10.1007/s00120-019-01047-1

5.Kirkali, Z., Rasooly, R., Star, R. A. &

Rodgers, G. P. Urinary stone disease: Progress, status, and needs. Urology. 2015; 86: 651–653. https://doi.org/10.1016/j.urology.2015.07.006
6.Bacârea, A., Fekete, G. L., Grigorescu, B. L. &Bacârea, V. C. Discrepancy in results between dipstick urinalysis and urine sediment microscopy. Exp. Ther. Med. 2021; 21: 538. https://doi.org/10.3892/etm.2021.9971
7.Gottlieb, M., Long, B. & Koyfman, A. The evaluation and management of urolithiasis in the ED: A review of the literature. Am. J. Emerg. Med. 2018; 36: 699–706. https://doi.org/10.1016/j.ajem.2018.01.003.
8.Hernandez, N., Song, Y., Noble, V. E. & Eisner, B. H. Predicting ureteral stones in emergency department patients with flank pain: An external validation of the STONE score. World J. Urol. 2016; 34: 1443–1446. https://doi.org/10.1007/s00345-016-1760-3
9.Safaie, A., Mirzadeh, M., Aliniagerdroudbari, E., Babaniamansour, S. &Baratloo, A. A clinical prediction rule for uncomplicated ureteral stone: The STONE score; a prospective observational validation cohort study. Turk. J. Emerg. Med. 2019; 19: 91–95. https://doi.org/10.1016/j.tjem.2019.04.001
10.Kopecny L, Palm CA, Segev G, Larsen JA, Westropp JL. Urolithiasis in cats: evaluation of trends in urolith composition and risk factors (2005-2018). J VetInternMed. 2021;35(3):1397–405. https://doi.org/10.1111/jvim.16121
11.Gambaro G, Croppi E, Bushinsky D, Jaeger P, Cupisti A, Ticinesi A, et al. The risk of chronic kidney disease associated with urolithiasis and its urological treatments: a review. J Urol. 2017; 198(2): 268–73. https://doi.org/10.1016/j.juro.2016.12.135
12.Ватников Ю.А., Миколенко О.Н., Вилковыский И.Ф. Динамика биохимических показателей сыворотки крови при мочекаменной болезни у кошек. Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2016; 12: 48-54.
13.Мелешков, С. Ф. Динамика функциональных расстройств мочеиспускания и их клинико-морфологические параллели при урологическом синдроме у кошек. Ветеринарная патология. 2008; 3: 48-55.
14.Almannie, R. M. et al. Neural network analysis of crystalluria content to predict urinary stone type. Res. Rep. Urol. 2021; 13: 867–876. https://doi.org/10.2147/rru.S322580
15.Abufaraj, M., Al Karmi, J. & Yang, L. Prevalence and trends of urolithiasis among adults. Curr. Opin. Urol. 2022; 32: 425–432. https://doi.org/10.1097/mou.0000000000000994
16.Kaul E, Hartmann K, Reese S, Dorsch R. Recurrence rate and long-term course of cats with feline lower urinary tract disease. J Feline Med Surg. 2020;22(6):544–56. https://doi.org/10.1177/1098612X19862887
17.Gomes VDR, Ariza PC, Borges NC, Schulz FJ Jr, Fioravanti MCS. Risk factors associated with feline urolithiasis. Vet Res Commun. 2018; 42(1):87–94. https://doi.org/10.1007/s11259-018-9710-8
18.Ушакова Т.М., Старикова Е.А., Дерезина Т.Н. Комплексный алгоритм фармакокоррекции расстройств гепаторенальной системы у кошек, больных уролитиазом. Ветеринарная патология.2019; 4 (70): 28-38.
19.Cleroux A, Alexander K, Beauchamp G, Dunn M. Evaluation for association between urolithiasis and chronic kidney disease in cats. J Am Vet Med Assoc. 2017;250(7):770–4. https://doi.org/10.2460/javma.250.7.770
20.Burggraaf ND, Westgeest DB, Corbee RJ. Analysis of 7866 feline and canine uroliths submitted between 2014 and 2020 in the Netherlands. Res VetSci. 2021;137: 86–93. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.04.026

REFERENCES

1. Vona, R., Pallotta, L., Cappelletti, M., Severi, C., Matarrese, P. The Impact of Oxidative Stress in Human Pathology: Focus on Gastrointestinal Disorders. Antioxidants. 2021;10: 201. https://doi.org/10.3390/antiox10020201
2.Zuo, L., Prather, E.R., Stetskiv, M., Garrison, D.E., Meade, J.R., Peace, T.I., Zhou, T. Inflammaging and oxidative stress in human diseases: From molecular mechanisms to novel treatments. Int. J. Mol. Sci. 2019;20:4472. https://doi.org/10.3390/

ijms20184472
3.Sobolev V.E. Nefrologiya i urologiya domashnej koshki. Rossijskijveterinarnyjzhurnal. Melkie domashnie i dikie zhivotnye. 2011; 1: 35-40. (In Russ.).
4.Knoll, T., Schönthaler, M. & Neisius, A. Urolithiasis. Urologe. 2019; 58:1271. https://doi.org/10.1007/s00120-019-01047-1
5.Kirkali, Z., Rasooly, R., Star, R. A. & Rodgers, G. P. Urinary stone disease: Progress, status, and needs. Urology. 2015; 86: 651–653. https://doi.org/10.1016/j.urology.2015.07.006
6.Bacârea, A., Fekete, G. L., Grigorescu, B. L. &Bacârea, V. C. Discrepancy in results between dipstick urinalysis and urine sediment microscopy. Exp. Ther. Med. 2021; 21: 538. https://doi.org/10.3892/etm.2021.9971
7.Gottlieb, M., Long, B. & Koyfman, A. The evaluation and management of urolithiasis in the ED: A review of the literature. Am. J. Emerg. Med. 2018; 36: 699–706. https://doi.org/10.1016/j.ajem.2018.01.003.
8.Hernandez, N., Song, Y., Noble, V. E. & Eisner, B. H. Predicting ureteral stones in emergency department patients with flank pain: An external validation of the STONE score. World J. Urol. 2016; 34: 1443–1446. https://doi.org/10.1007/s00345-016-1760-3
9.Safaie, A., Mirzadeh, M., Aliniagerdroudbari, E., Babaniamansour, S. &Baratloo, A. A clinical prediction rule for uncomplicated ureteral stone: The STONE score; a prospective observational validation cohort study. Turk. J. Emerg. Med. 2019; 19: 91–95. https://doi.org/10.1016/j.tjem.2019.04.001
10.Kopecny L, Palm CA, Segev G, Larsen JA, Westropp JL. Urolithiasis in cats: evaluation of trends in urolith composition and risk factors (2005-2018). J Vet Intern Med. 2021;35(3):1397–405. https://doi.org/10.1111/jvim.16121
11.Gambaro G, Croppi E, Bushinsky D, Jaeger P, Cupisti A, Ticinesi A, et al. The risk of chronic kidney disease associated with urolithiasis and its urological treatments: a review. J Urol. 2017; 198(2): 268–73. https://doi.org/10.1016/j.juro.2016.12.135
12.VatnikovYu.A., Mikolenko O.N., Vilkovyskij I.F. Dinamikabioximicheskixpokazatelejsy`vorotkikroviprimocheka mennojbolezni u koshek. Veterinariya, zootexniyaibiotexnologiya. 2016; 12: 48-54. (In Russ.).
13.Meleshkov, S. F. Dinamika funkcionalnyx rasstrojstv mocheispuskaniyai ix kliniko - morfologicheskieparallelipriurologicheskomsindrome u koshek. Veterinarnayapatologiya. 2008; 3: 48-55. (In Russ.).
14.Almannie, R. M. et al. Neural network analysis of crystalluria content to predict urinary stone type. Res. Rep. Urol. 2021; 13: 867–876. https://doi.org/10.2147/rru.S322580
15.Abufaraj, M., Al Karmi, J. & Yang, L. Prevalence and trends of urolithiasis among adults. Curr. Opin. Urol. 2022; 32: 425–432. https://doi.org/10.1097/mou.0000000000000994
16.Kaul E, Hartmann K, Reese S, Dorsch R. Recurrence rate and long-term course of cats with feline lower urinary tract disease. J Feline Med Surg. 2020;22(6):544–56. https://doi.org/10.1177/1098612X19862887
17.Gomes VDR, Ariza PC, Borges NC, Schulz FJ Jr, Fioravanti MCS. Risk factors associated with feline urolithiasis. Vet Res Commun. 2018; 42(1):87–94. https://doi.org/10.1007/s11259-018-9710-8
18.Ushakova T.M., Starikova E.A., Derezina T.N. Kompleksnyjalgoritmfarmakokorrekciirasstrojstvgepatorenalnojsistemy u koshek, bolnyxurolitiazom. Veterinarnaya patologiya.2019; 4 (70): 28-38. (In Russ.).
19.Cleroux A, Alexander K, Beauchamp G, Dunn M. Evaluation for association between urolithiasis and chronic kidney disease in cats. J Am Vet Med Assoc. 2017;250(7):770–4. https://doi.org/10.2460/javma.250.7.770
20.Burggraaf ND, Westgeest DB, Corbee RJ. Analysis of 7866 feline and canine uroliths submitted between 2014 and 2020 in the Netherlands. Res Vet Sci. 2021;137: 86–93. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.04.026



Редакция журнала
«Международный вестник ветеринарии»
196084, Санкт-Петербург, Черниговская 5,
СПбГУВМ.
Телефон/факс (812) 387-11-58
Mail to: farm_vestnik@mail.ru