DOI: 10.52419/issn2072-2419.2025.4

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ

№4

International bulletin of Veterinary Medicine

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ- 2025

www.spbguvm.ru

№4/2025

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ

Международный ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ 4.2025

Редакционный совет
К.В. Племяшов - гл. ред., чл.-корр. РАН, д-р ветеринар. наук, проф., СПб.
Л.Ю. Карпенко - зам. гл. ред., д-р биол. наук, проф., СПб.
А.И. Ятусевич - зам. гл. ред., д-р ветеринар. наук, проф., академик РАН, Витебск.
Редакционная коллегия
Н.Л. Андреева - д-р биол. наук, проф., СПб.
Л.М. Белова - д-р биол. наук, проф., СПб.
М.И. Гулюкин - акад. РАН, д-р ветеринар. наук, проф., Москва.
Н.В. 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 08.12.2025
Подписано к печати 26.12.2025
Формат 70×100 1/16.
Бумага глянцевая № 1. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 41,25+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 08.12.2025
Signed for printing 26.12.2025
The format of 100 × 70 1/16 .
Glossy paper number 1. Offset printing.
Conv. Pec. liter. 41,25+0,25 fl. incl.
Conv. Cr. - ott . 18.2 .
Circulation 1001 copies.

На 1 странице обложки: главный корпус 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

• *Способ количественного определения вирусных нуклеиновых кислот для стандартизации условий производства интраназальной вакцины против респираторных болезней новорожденных телят. Хаммадов Н.И., Горбунова М.Е., Тарасова Е.Ю., Шангараев Р.И., Дуплева Л.Ш., Усольцев К.В., Ефимова М.А.* **15**

• *Ретроспективный анализ эпизоотической ситуации по инфекционным болезням животных и птиц на территории Иркутской области в период с 2015 по 2023 года. Батомункуев А.С., Мельцов И.В., Сухинин А.А.* **27**

• *Эпизоотическая ситуация по сибирской язве и некробактериозу северных оленей в республике Саха (Якутия). Винокуров И.Е., Слепцов Е.С., Корякина Л.П., Саввинова М.С., Алферов И.В.* **39**

• *Филогенетическое исследование кишечного микробиома чира (Coregonus nasus). Воронов К.Е., Лукина Ю.Н., Апаликова О.В.* **47**

• *Разработка реакции латекс-агглютинации для диагностики геморрагического энтерита индеек. Красков Д.А., Джавадов Э.Д., Веретенников В.В., Тарлавин Н.В., Дубовой А.С., Самусева Г.Н.* **58**

• *Изучение поствакцинального иммуногенеза у гусей в производственных условиях методом имуноферметного анализа. Березкин В.А., Голодяева М.С., Никитина Н.В.* **68**

• *Геморрагический энтерит индеек и связанные с ним инфекции (обзор). Дмитриева М.Е., Дубовой А.С., Самусева Г.Н., Бочкарев В.С., Красков Д.А.* **76**

• *Влияние симбиотика на энтеромикробиоценоз, биохимический и иммунологический статус цыплят-бройлеров на фоне экспериментального колибактериоза. Лещёва Н.А., Плешакова В.И.* **87**

• *Совершенствование способа культивирования респираторно-синцитиального вируса для создания вакцины против респираторных инфекций телят. Тарасова Е.Ю., Хаммадов Н.И., Ефимова М.А., Кашеваров Г.С., Каримуллина И.Г., Калимуллин Ф.Х., Быкова П.В.* **97**

• *Разработка мультиплексного ПЦР-анализа в реальном времени для выявления вируса инфекционной бурсальной болезни и вируса инфекционной анемии цыплят. Семина А.Н., Дмитриев К.Ю.* **107**

Инвазионные болезни

•*Эпизоотическая ситуация пироплазмидозо (кровепаразитарных болезней) крупного рогатого скота в северных районах республики Каракалпакстан. Мавланов С.И., Отегенова Ш.К.* **116**

•*Анализ эпизоотической обстановки по паразитозам коз в крестьянско-фермерских и личных подсобных хозяйствах Ленинградской и Псковской областей. Самойлова Д.С.* **125**

•*Клинический случай диагностики и лечения собаки при диоктофимозе (клинический случай). Кузнецов Ю.Е., Кузнецова Н.В.* **132**

• *Трофико-экологические связи паразитов хищных млекопитающих Узбекистана. Сафаров А.А., Акрамова Ф.Д., Мухитдинова Н.Ф., Абдухоликов Х.Х., Абдиева Т.Ж., Каримова Н.Б., Азимов Д.А.* **139**

Фармакология, токсикология, фармация	• *Результаты изучения переносимости препарата «Эндосептам». Идиятов И.И., Тремасова А.М., Ганиев И.М., Мусин Р.Р., Бирюля В.В.*	**160**
	• *Интегрированный подход к проблеме распространения антибиотикорезистентности на животноводческих предприятиях Свердловской области. Безбородова Н.А., Исакова М.Н., Соколова О.В., Кривоногова А.С., Зубарева В.Д., Суздальцева М.А.*	**167**
	• *Оценка токсичности 7,8-дигидрокси-4-метилкумарина и ванилиновой кислоты. Курилкина М.Я., Лазебник К.С., Климова Т.А., Дускаев Г.К.*	**184**
	• *Пусковые механизмы окислительного стресса в органах репродуктивной системы у крыс при воздействии на организм дельтаметрина. Чигринский Е.А., Герунова Л.К., Герунов Т.В., Диц Л.А.*	**193**
	• *Изучение субхронической токсичности белково-липидной муки, полученной из Hermetia illucens (Linnaeus, 1758). Глазунова Л.А., Столбова О.А., Краснолобова Е.П., Веремеева С.А., Калугина Е.Г., Михайлов М.В., Плохотникова Ю.М.*	**203**
	• *Оценка общей и острой токсичности кормовой добавки на основе хитозана и диатомита In vivo. Балыкина А.Б., Карпенко Л.Ю., Киянчук М.В., Никонов И.Н.*	**214**
	• *Влияние гепатотоксикантов разных химичеких групп на элиминацию Сорбитола. Понамарёв В.С., Андреева Н.Л.*	**222**
	• *Корреляционные показатели между фармакокинетическими параметрами сорбитола у клинически здоровых лабораторных и сельскохозяйственных животных. Понамарёв В.С.*	**229**
Зоогигиена, санитария, кормление	• *Определение содержания белка, воды и жира в мясе пушных зверей методом инфракрасной спектрометрии в ближнем диапазоне. Калюжная Т.В., Олонцев В.А., Орлов С.И.*	**236**
	• *Оценка чувствительности микроорганизмов по отношению к медьсодержащим добавкам. Капитонова Е.А., Власенко Е.В., Дедкова А.Н.*	**242**
	• *Влияние кормовой микроэлементной добавки железа на экспрессию генов его усвоения в двенадцатиперстной кишке кур-несушек третьего периода продуктивности. Кочиш И.И., Капитонова Е.А., Мясникова О.В., Коновалова Е.М., Коренюга М.В., Мотин М.С.*	**250**
	• *Влияние функциональной нагрузки при транспортировке на показатели энергообмена у свиней перед убоем. Нечаев А.Ю., Белопольский А.Е.*	**260**
Биохимия, морфология, физиология	• *Биохимические показатели сыворотки крови белых крыс при комбинированном воздействии фузариотоксинов. Матросова Л.Е., Семёнов Э.И., Ермолаева О.К., Вафин Ф.Р., Сагдеева З.Х.*	**269**
	• *Особенности микроанатомии шейной части пищевода бройлеров кросса «Росс-308» под влиянием энтеросорбента и биофлавоноида. Горшкова Е.В., Адельгейм Е.Е., Башина С.И.*	**276**
	• *Физиологические показатели крови и интенсивность ростовых процессов цыплят под влиянием комплекса аминокислот. Присный А.А., Чуркина Я.В.*	**283**

•*Определение ацетабулярного угла на тазовой конечности у морских свинок. Суслов Е.С., Мельников С.И.* **290**

• *Изучение таксономического и функционального профиля микробиома кишечника белой куропатки. Филатов А.В., Николаев С.В., Лаптев Г.Ю., Ильина Л.А.* **298**

• *Сравнительный анализ хода и ветвления вены сафена у соболей в возрастном аспекте. Яволовская Я.О., Щипакин М.В.* **310**

• *Физиологические механизмы усиления остеогенеза у уток под воздействием наночастиц бентонита в период эмбриогенеза. Тодороски К., Ежкова А.М., Ежков В.О.* **317**

•*Микроморфологические характеристики копытец крупного рогатого скота и лося. Фаттахов А.К., Белогуров В.В., Борхунова Е.Н.* **325**

• *Метаболическая роль органо-минеральной добавки клим при экспериментальном повреждении печени у крыс. Анисимова К.А., Лукоянова Л.А.* **340**

• *Зависимость аминокислотного состава и показателей качества молока от степени молочной продуктивности коров голштинской породы. Колесник Н.С., Зайцев С.Ю., Воронина О.А., Савина А. А.* **347**

• *Влияние полового диморфизма индеек мясных пород на развитие некоторых внутренних органов. Краснолобова Е.П., Веремеева С.А., Козлова С.В.* **257**

• *Показатели, характеризующие состояние гепатобилиарной системы цыплят при действии пробиотика и энрофлоксацина. Круть У.А., Потапова М.С., Шайдорова Г.М., Выросткова А.С., Болгов А.А.* **367**

• *Влияние количества лактаций коров на показатели биохимического и антиоксидантного профиля пастеризованного и непастреризованного молока. Савина А.А., Воронина О.А., Зайцев С.Ю.* **377**

• *Интегральная характеристика крови маточного поголовья карпа обыкновенного (Cyprinus carpio) при жировой дистрофии печени. Семенова Е.В.* **384**

• *Разработка и апробация метода переноса симбиофауны крупного рогатого скота. Слепцов Е.С., Алферов И.В., Корякина Л.П., Румянцева Т.Д., Федорова П.Н.* **393**

• *Сравнение биологической активности In vitro секретомов мезенхимальных стволовых клеток, выделенных из жировой ткани лошади. Трифонова А.В., Али С.Г., Нечаев А.Ю., Лаврик А.А., Минина А. О.* **402**

• *Характеристика структурно-функциональных изменений внутренних органов коров в разные возрастные периоды. Шкуратова И.А., Дроздова Л.И., Петрова И.М., Хацко С.Л., Соколова О.В., Бытов М.В.* **411**

• *Краниометрическпя феногеография лесных северных оленей Сибири и Дальнего востока. Южаков А.А., Мухачев А.Д., Мусидрай А.А., Лайшев К.А.* **423**

	• *Современные подходы к изучению пробиотиков в аквакультуре: гистологический и молекулярно-генетический анализ воздействия Бацелл-М на карпа обыкновенного (Cyprinus carpio). Саврасова Н.П., Семенова Е.В., Михайлов Е.В., Адаев Б.Н.*	**432**
	• *GWAS-анализ биохимического и жирнокислотного состава молока коров красного белорусского скота. Недашковский И.С., Сермягин А.А., Михайлова М.Е., Песоцкий Н.И., Шейко Р.И., Шейко И.П.*	**441**
Акушерство и гинекология	•*Влияние криофракций селезенки и плаценты крупного рогатого скота на частоту доминантных летальных мутаций у мышей в условиях генотоксического воздействия. Востроилова Г.А., Шабунин С.В., Шабанов Д.И., Хохлова Н.А., Корчагина А.А., Некрасов А.В.*	**468**
	• *Оценка ассоциаций генов PIT-1 и PRL с молочной продуктивностью и анализ условий статистической подтверждаемости различий у коров красной степной породы. Оздемиров А.А., Крупин Е.О.*	**478**
	• *Оптимизация методов криоконсервации спермы африканского клариевого сома (Clarias gariepinus) для использования в полевых условиях на предприятиях аквакультуры. Теплякова А.В., Григорьев В.А.*	**491**
	• *Взаимосвязь полиморфизма генов FSHR и INHBA с качеством эякулята у собак различных пород. Богданова С.С., Никиткина Е.В.*	**500**
	• *Разработка и оптимизация ПЦР-методов для детекции наследственных аномалий M1 и DL у крупного рогатого скота мясных пород. Мартынов Н.А., Зубарева В.Д., Бытов М.В., Безбородова Н.А., Соколова О.В., Романов Е.В., Зайцева О.С.*	**508**
	• *Влияние полиморфизма гена IGF-1 на молочную продуктивность и репродуктивные качества крупного рогатого скота голштинской породы в условиях Республики Татарстан. Муханина Е.Н., Шакиров Ш.К., Вологин Д.С.*	**517**
	•*Кальциевый гомеостаз в нативных и декриоконсервированных сперматозоидах Gallus gallus D. Кузьмина Т.И., Курочкин А.А., Плешанов Н.В., Притужалова А.О.*	**525**
	• *Оценка генетического разнообразия, показателей продуктивных качеств и воспроизводительной способности голштинского скота по гену $SELP_{ex8}$. Сафина Н.Ю., Гайнутдинова Э.Р., Фаттахова З.Ф.*	**534**
	• *Опыт получения и оценки спермы у ремонтных бычков в постпубертатный период. Турлова Ю.Г., Никиткина Е.В., Елохин Е.А., Богданова С.С.*	**544**
	• *Эффективность синхронизации овуляции в лечении и профилактике бесплодия у коров. Усевич В.М., Дрозд М.Н., Баркова А.С.*	**552**
	• *Роль гена пролактина в формировании морфофункциональных особенностей молочной железы и предрасположенности к маститам у коров костромской породы. Чаицкая К.Д., Чаицкий А.А., Королев А.А., Щеголев П.О., Кочуева Н.А., Дуркина В.А.*	**563**

	• *Сравнительный анализ энергетической ценности яиц кур генофондных пород и промышленного кросса. Станишевская О.И., Федорова Е.С., Силюкова Ю.Л.*	**578**
Хирургия	• *Клиническое проявление и лечение ороназальной фистулы у собак (клинический случай). Спирина А.С., Бычков В.С., Корчнева Т.В., Красников А.В., Кречуняк М.П.*	**586**
	• *Клиничекие и биохимические показатели сыворотки крови при гниении стрелки у лошадей. Кириллов А.А., Стекольников А.А.*	**598**
Незаразные болезни	• *Коррекция гиперфосфатемии у кошек при хронической болезни почек третьей стадии. Зирук И.В., Волкова Д.В., Пашкевич В.В., Копчекчи М.Е., Петрова Ю.В.*	**604**
	• *Корреляция перистальтики тонкой кишки и ультразвукового признака «Гало» желчного пузыря у собак. Зирук И.В., Волкова Д.В., Пашкевич В.В., Копчекчи М.Е., Петрова Ю.В.*	**611**
	• *Перспективы применения клеточной терапии в ветеринарии. Головин С.Н., Кириченко Е.Ю., Седова Д.А., Ермаков А.М.*	**619**
	• *Частота встречаемости дилатационной кардиомиопатии и сопутствующих ей осложнений у собак. Погодаева К.А., Прусаков А.В., Яшин А.В.*	**637**
	• *Показания к проведению биомикроскопии птицам. Соломахина Л.А.*	**642**
	• *Поисковое исследование применения ингибиторов р-гликопротеина при терапии у животных с онкологическими патологиями. Назарова А.В., Семенов Б.С., Кузнецова Т.Ш.*	**650**

CONTENTS

Infectious diseases	•*A method for the quantitative determination of viral nucleic acids to standardize the production conditions of an intranasal vaccine against respiratory diseases of newborn calves. Hammadov N.I., Gorbunova M.E., Tarasova E.Yu., Shangaraev R.I., Dupleva L.Sh., Usoltsev K.V., Efimova M.A.*	**15**
	•*A retrospective analysis of the epizootic situation of infectious diseases of animals and birds in the territory Irkutsk region in the period from 2015 to 2023. Batomunkuyev A.S., Meltsov I.V., Sukhinin A.A.*	**27**
	• *The epizootic situation of anthrax and necrobacteriosis of reindeer in the Republic of Sakha (Yakutia). Vinokurov I.E., Sleptsov E.S., Koryakina L.P., Savvinova M.S., Alferov I.V.*	**39**
	•*Phylogenetic study of the gut microbiome of broad whitefish (coregonus nasus). Voronov K.E., Lukina Yu.N., Apalikova O.V.*	**47**
	•*Development of latex agglutination reaction for the diagnosis of hemorrhagic enteritis in turkeys. Kraskov D.A., Javadov E.D., Veretennikov V.V., Tarlavin N.V., Dubovoy A.S., Samuseva G.N.*	**58**
	•*Study of post-vaccination immunogenesis in geese in production conditions by the method of immunofermetic analysis. Berezkin V.A., Golodyaeva M.S., Nikitina N.V.*	**68**
	•*Hemorrhagic enteritis of turkeys and related infections (review). Dmitrieva M.E., Dubovoy A.S., Samuseva G.N., Bochkarev V.S., Kraskov D.A.*	**76**
	• *The effect of the symbiotic on enteromicrobiocenosis, biochemical and immunological status of broiler chickens against the background of experimental colibacteriosis. Leshcheva N.A., Pleshakova V.I.*	**87**
	• *Improving the method of cultivation of respiratory syncytial virus to create a vaccine against respiratory infections of calves. Tarasova E.Yu., Hammadov N.I., Efimova M.A., Kashevarov G.S., Karimullina I.G., Kalimullin F.Kh., Bykova P.V.*	**97**
	•*Development of real-time multiplex PCR analysis for detection of infectious bursal disease virus and infectious anemia virus in chickens. Semina A.N., Dmitriev K.Yu.*	**107**
Invasive diseases	•*The epizootic situation of pyroplasmidosis (blood parasitic diseases) of cattle in the northern regions of the Republic of Karakalpakstan. Mavlanov S.I., Otegenova S.K.*	**116**
	•*Analysis of the epizootic situation of goat parasitosis in peasant farms and private subsidiary farms Leningrad and Pskov regions. Samoylova D.S.*	**125**
	•*A clinical case of diagnosis and treatment of a dog with dioctophimosis (clinical case). Kuznetsov Yu.E., Kuznetsova N.V.*	**132**
	•*Trophico-ecological relations of predatory parasites mammals of Uzbekistan. Safarov A.A., Akramova F.D., Mukhitdinova N.F., Abdukholikov H.H., Abdieva T.Zh., Karimova N.B., Azimov D.A.*	**139**
Pharmacology, toxicology, pharmacy	•*The results of studying the tolerability of the drug "Endoseptam". Idiatov I.I., Tremasova A.M., Ganiev I.M., Musin R.R., Biryulya V.V.*	**160**

	•*An integrated approach to the problem of the spread of antibiotic resistance in livestock enterprises of the Sverdlovsk region. Bezborodova N.A.,Isakova M.N., Sokolova O.V., Krivonogova A.S., Zubareva V.D., Suzdaltseva M.A.*	**167**
	•*Toxicity assessment of 7,8-dihydroxy-4-methylcoumarin and vanillic acid. Kurilkina M.Ya., Lazebnik K.S., Klimova T.A., Duskaev G.K.*	**184**
	•*Triggers of oxidative stress in the organs of the reproductive system in rats when exposed to deltamethrin. Chigrinsky E.A., Gerunova L.K., Gerunov T.V., Dietz L.A.*	**193**
	•*Study of the subchronic toxicity of protein-lipid flour obtained from Hermetia illucens (Linnaeus, 1758). Glazunova L.A., Stolbova O.A., Krasnolobova E.P., Veremeeva S.A., Kalugina E.G., Mikhailov M.V., Plokhotnikova Yu.M.*	**203**
	•*Assessment of general and acute toxicity of chitosan and diatomite-based feed additives in vivo. Balykina A.B., Karpenko L.Yu., Kiyanchuk M.V., Nikonov I.N.*	**214**
	•*The effect of hepatotoxicants of different chemical groups on the elimination of Sorbitol. Ponamarev V.S., Andreeva N.L*	**222**
	•*Correlation indicators between pharmacokinetic parameters of sorbitol in clinically healthy laboratory and farm animals. Ponamarev V.S.*	**229**
Zoohygiene, sanitation, feeding	•*Determination of protein, water, and fat content in fur-bearing animal meat by near-infrared spectrometry. Kalyuzhnaya T.V., Olontsev V.A., Orlov S.I.*	**236**
	•*Evaluation of the sensitivity of microorganisms to copper-containing additives. Kapitonova E.A., Vlasenko E.V., Dedkova A.N.*	**242**
	•*The effect of feed micronutrient iron supplementation on the expression of its assimilation genes in the duodenum of laying hens of the third period of productivity. Kochish I.I., Kapitonova E.A., Myasnikova O.V., Konovalova E.M., Korenyuga M.V., Motin M.S.*	**250**
	•*The effect of functional load during transportation on indicators of energy exchange in pigs before slaughter. Nechaev A.Yu., Belopolsky A.E..*	**260**
Biochemistry, morphology, physiology	•*Biochemical parameters of the blood serum of white rats under the combined effect of fusariotoxins. Matrosova L.E., Semenov E.I., Ermolaeva O.K., Vafin F.R., Sagdeeva Z.H.*	**269**
	•*Features of microanatomy of the cervical esophagus of Ross-308 cross broilers under the influence of enterosorbent and bioflavonoid. Gorshkova E.V., Adelheim E.E., Bashina S.I.*	**276**
	• *Physiological parameters of blood and intensity of growth processes of chickens under the influence of a complex of amino acids. Prisny A.A., Churkina Ya.V.*	**283**
	•*Determination of the acetabular angle on the pelvic limb in guinea pigs. Suslov E.S., Melnikov S.I.*	**290**
	•*Study of taxonomic and functional profile the intestinal microbiome of the white partridge. Filatov A.V., Nikolaev S.V., Laptev G.Yu., Ilyina L.A.*	**298**
	•*Comparative analysis of the course and branching of the safena vein in sables in the age aspect. Yavolovskaya Ya.O., Shchipakin M.V.*	**310**

	•*Physiological mechanisms of enhanced osteogenesis of ducks under the influence of bentonite nanoparticles during embryogenesis. K. Todorosky. A. Yezhkov.M. N. V. Yezhkov.O.*	**317**
	•*Micromorphological characteristics of the hoof of cattle and moose. A. Fattakhov.K. V. Belogurov.V. N., E. Borkhunova.H.*	**325**
	•*The metabolic role of the organo-mineral supplement klim in experimental liver replication in rats. Ansimova, A. L. Lukoyanova.A.*	**340**
	•*Dependence of amino acid composition and indicators the quality of milk depends on the degree of milk productivity of Holstein cows. Kolesnik N.According to S. N. S. Zaitsev.Yu. n. O. Voronin.A. A. Savina. A.*	**347**
	•*The influence of sexual dimorphism of meat breed turkeys on the development of some internal organs of E. Krasnolobov.In accordance with P. S. Veremeev, A. S. Kozlov, V. N.*	**357**
	•*Indicators characterizing the state of the hepatobiliary system of chickens under the action of probiotics and enrofloxacin, U. Krut, and A. M. Potapov.According to S. N. G. Shaidorov. M. N. A. Vyrostkov.According to S. N. A. Bolgov.A.*	**367**
	•*The effect of the number of lactation cows on the indicators biochemical and antioxidant profile of pasteurized and unpasteurized milk. A. Savina.A. O. Voronina.But., Zaitsev S. N.Yu.*	**377**
	•*Integral characteristics of the blood of the brood stock of common carp (cyprinus carpio) with fatty liver. E. Semenova.V. N.*	**384**
	•*Development and testing of a method for transferring symbiofauna of cattle. E. Sleptsov.According to S.N. I. Alferov, V.N., L. Koryakin.In accordance with P. T. Rumyantsev, D. P. Fedorov.H.*	**393**
	•*Comparison of biological activity In vitro by the secretion of mesenchymal stem cells isolated from adipose tissue and N. A. Trifonov, V. N. S. Ali.According to G. N. A. Nechaev.Jn., A. Lavrik.A. A. Minina. O.*	**402**
	•*Characteristics of structural and functional changes the cortex of internal organs in different age periods. I. Shkuratova and A. L. Drozdova.Laureate of the I. Petrov Prize.M. N. S. Khatsko.L.N., O. Sokolov.V. N. M. Bytov.V. N.*	**411**
	•*Craniometric phenogeography of forest reindeer of Siberia and the Far East A. Yuzhakov.A. A. Mukhachev.D., A. Musidray.A. K. Laishev.A.*	**423**
	•*Modern approaches to the study of probiotics in aquaculture: histological and molecular genetic analysis of the effects of Bacell-M on common carp (Cyprinus carpio). Savrasova N.P., Semenova E.V., Mikhailov E.V., Adaev B.N.*	**432**
	•*GWAS is an analysis of the biochemical and fatty acid composition of the milk of cows of red Belarusian cattle. Nedashkovsky I.S., Sermyagin A.A., Mikhailova M.E., Pesotsky N.I., Sheiko R.I., Sheiko I.P.*	**441**
Obstetrics, gynecology	•*The effect of cryofraction of the bovine spleen and placenta on the frequency of dominant lethal mutations in mice under genotoxic conditions. Vostroilova G.A., Shabunin S.V., Shabanov D.I., Khokhlova N.A., Korchagina A.A., Nekrasov A.V.*	**468**

	•*Evaluation of the associations of PIT-1 and PRL genes with milk productivity and analysis of the conditions for statistical confirmation of differences in cows of the red steppe breed. Ozdemirov A.A., Krupin E.O.*	**478**
	•*Optimization of sperm cryopreservation methods for African Clarias catfish (Clarias gariepinus) for field use in aquaculture enterprises. Teplyakova A.V., Grigoriev V.A.*	**491**
	• *The relationship of polymorphism of the FSHR and INHBA genes with the quality of ejaculate in dogs of various breeds. Bogdanova S.S., Nikitkina E.V.*	**500**
	•*Development and optimization of PCR methods for detection hereditary abnormalities of M1 and DL in beef cattle. Martynov N.A., Zubareva V.D., Bytov M.V., Bezborodova N.A., Sokolova O.V., Romanov E.V., Zaitseva O.S.*	**508**
	•*The effect of IGF-1 gene polymorphism on dairy productivity and reproductive qualities of Holstein cattle in the Republic of Tatarstan. Mukhanina E.N., Shakirov Sh.K., Vologda D.S.*	**517**
	•*Calcium homeostasis in native and decryoconserved Gallus gallus D. spermatozoa Kuzmina T.I., Kurochkin A.A., Pleshanov N.V., Prituzhalova A.O.*	**525**
	•*Assessment of genetic diversity, indicators productive qualities and reproductive capacity of Holstein cattle according to the SELP gene. Safina N.Yu., Gaynutdinova E.R., Fattakhova Z.F.*	**534**
	•*The experience of obtaining and evaluating sperm from repair bulls in the post-puberty period. Turlova Yu.G., Nikitkina E.V., Elokhin E.A., Bogdanova S.S.*	**544**
	•*The effectiveness of ovulation synchronization in the treatment and prevention of infertility in cows. Usevich V.M., Drozd M.N., Barkova A.S.*	**552**
	•*The role of the prolactin gene in the formation of morphofunctional features of the mammary gland and predisposition to mastitis in Kostroma cows. Chaitskaya K.D., Chaitsky A.A., Korolev A.A., Shchegolev P.O., Kochueva N.A., Durkina V.A.*	**563**
	•*Comparative analysis of the energy value of eggs of hens of gene pool breeds and industrial cross. Stanishevskaya O.I., Fedorova E.S., Silyukova Yu.L.*	**578**
Surgery	•*Clinical manifestation and treatment of oronasal fistula in dogs (clinical case). Spirina A.S., Bychkov V.S., Korchneva T.V., Krasnikov A.V., Krechunyak M.P.*	**586**
	•*Clinical and biochemical parameters of blood serum in case of arrow rot in horses. Kirillov A.A., Stekolnikov A.A.*	**598**
Non-communicable diseases	•*Correction of hyperphosphatemia in cats with chronic kidney disease of the third stage. Ziruk I.V., Volkova D.V., Pashkevich V.V., Kopchekchi M.E., Petrova Yu.V.*	**604**
	•*Correlation of peristalsis of the small intestine and the ultrasound sign of the gallbladder "Halo" in dogs. Ziruk I.V., Volkova D.V., Pashkevich V.V., Kopchekchi M.E., Petrova Yu.V.*	**611**
	•*Prospects of cell therapy application in veterinary medicine. Golovin S.N., Kirichenko E.Yu., Sedova D.A., Ermakov A.M.*	**619**

•*Frequency of occurrence of dilated cardiomyopathy and related complications in dogs. Pogodaeva K.A., Prusakov A.V., Yashin A.V.* **637**

•*Indications for biomicroscopy in birds. Solomakhina L.A.* **642**

•*Exploratory study of the use of p-glycoprotein inhibitors in therapy in animals with oncological pathologies. Nazarova A.V., Semenov B.S., Kuznetsova T.S.* **650**

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК: 615.37:578.825.1:578.831.1:578.831.31
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.15

СПОСОБ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИРУСНЫХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ДЛЯ СТАНДАРТИЗАЦИИ УСЛОВИЙ ПРОИЗВОДСТВА ИНТРАНАЗАЛЬНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ РЕСПИРАТОРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ

Хаммадов Н.И. [1,2]* – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-5669-1486); **Горбунова М.Е.** [1] – канд. биол. наук, науч. сотр. (ORCID 0000-0002-0707-2117); **Тарасова Е.Ю.** [1] – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-9056-5798); **Шангараев Р.И.** [1] **–** канд. ветеринар. наук., науч. сотр. (ORCID 0000-0003-3689-1442); **Дуплева Л.Ш**. [1] – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-0915-3989); **Усольцев К.В**.[1] – канд. ветеринар. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-5279-9836); **Ефимова М.А.** [1,2] – д-р биол., наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-8786-1310)

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

* nikhammadov@mail.ru

Ключевые слова: *телята, крупный рогатый скот, вакцина, геном, вирус, инфекционный ринотрахеит, парагрипп-3, респираторно-синцитиальная инфекция, количественная полимеразная цепная реакция.*

Keywords: *calves, cattle, vaccine, genome, virus, infectious rhinotracheitis, parainfluenza-3, respiratory syncytial infection, quantitative polymerase chain reaction.*

Поступила: 16.06.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Основными критериями оценки вакцин являются их иммуногенность, специфическая активность и безопасность. Целью данной работы являлась разработка ПЦР в реальном времени для выявления и количественной оценки вирусных нуклеиновых кислот для стандартизации условий производства интраназальной вакцины против респираторных болезней новорожденных телят. Сконструированы комбинации праймеров и зондов (для каждого патогена индивидуально) позволяющие идентифицировать участок гликопротеина G респираторно-синцитиального вируса (РСВ) размером 97 п.н. расположенного в области от 4849 до 4945 п.н.; участок 130 п.н Р-гена возбудителя ПГ-3 в области от 2856 до 2985 п.н.; локус 171 п.н вируса ИРТ в области от 8271 по 8341 п.н.. Создан и синтезирован положительный контрольный образец (ПКО), представляющий собой замкнутую в кольцо двухцепочную молекулу ДНК (5618 п.н.), содержащую нуклеотидную последовательность,

состоящую из сконструированных праймеров и зондов для индикации вирусов ИРТ, ПГ-3 и РСИ. С использованием ПКО определены оптимальные условия постановки количественной ПЦР-РВ и состав реакционной смеси. Минимальная концентрация плазмидной ДНК, при которой регистрировалась успешная амплификация составила 5 аг/мкл, что соответствовало разведению 10^{-10}, при котором в 1 мл раствора содержалось 826 молекул плазмидной ДНК. По результатам амплификации вируссодержащего материала установлены следующие концентрации патогенов: ИРТ – 0,7-1,5 млн копий ДНК/мл, ПГ -3 – 0,1-0,5 млн копий РНК/мл и РСВ – 20-80 тыс. копий РНК/мл. Разработанный способ определения количественного содержания вирусных НК на основе ПЦР-РВ благодаря своим характеристикам является перспективным подходом при организации производства вакцины для профилактики респираторных инфекций молодняка, а также обеспечивает соответствие конечного продукта стандартам качества.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Респираторные заболевания крупного рогатого скота – это комплекс заболеваний, вызываемых многочисленными вирусными и бактериальными патогенами [1]. Среди основных вирусных патогенов, ассоциированных с данной группой заболеваний, следует выделить вирус герпеса крупного рогатого скота типа 1, также известный как вирус инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота (ИРТ), вирус парагриппа крупного рогатого скота-3 (ПГ-3) и респираторно-синцитиальный вирус крупного рогатого скота (РСВ) [2]. Данные патогены, обладая высокой контагиозностью и патогенностью, представляют собой серьезную угрозу для здоровья и продуктивности животных, особенно в условиях современного интенсивно развивающегося животноводства. В результате инфицирования указанными вирусами наблюдаются значительные потери новорожденных телят и молодняка более старшего возраста, что влечет за собой существенные экономические убытки для молочного и мясного скотоводства [3].

Инфекционный ринотрахеит (ИРТ) – остро протекающая контагиозная болезнь крупного рогатого скота характеризуется лихорадкой, катарально-некротическим воспалением верхних дыхательных путей, поражением глаз, центральной нервной системы, а также органов репродуктивной системы. ИРТ часто протекает субклинически. После выздоровления животные становятся пожизненными латентными носителями вируса [4]. Возбудителем инфекции является альфагерпесвирус 1-го типа (BoAHV-1), относящийся к семейству *Herpesviridae*, подсемейству *Alphaherpesvirinae* и роду *Varicellovirus*. Данный вирус имеет диаметр около 150 нм и заключён в икосаэдрический капсид, который содержит двухцепочечную ДНК и кодирует около 73 различных белков [5]. На основании антигенных и генетических характеристик штаммы ИРТ делятся на подтипы 1.1, 1.2a, 1.2b и 1.3 [6].

Вирус, вызывающий ПГ-3 относится к семейству *Paramyxoviridae,* роду *Paramyxovirus* и является наиболее часто встречающимся этиологическим агентом, эндемичным для популяций крупного рогатого скота во всем мире. Вирион вируса состоит из двух основных компонентов: внутреннего рибонуклеопротеида (нуклеокапсида), который содержит одноцепочечную несегментированную РНК, и матриксного белка. Нуклеокапсид окружён липопротеиновой оболочкой. На сегодняшний день учеными описаны три генотипа возбудителя ПГ-3: A (классический), B и C. Вакцины, используемые в России против вируса ПК-3 крупного рогатого скота, были разработаны на основе референтного штамма, принадлежащего генотипу A. Перекрестная защита таких вакцин от ПГ-3, вызванного генотипами B и C, остается неясной, поэтому разработки альтернативных диагностических тестов и вакцин для профилактики остается актуальной задачей [7].

Респираторно-синцитиальный вирус (РСВ) крупного рогатого скота относится к семейству *Pneumoviridae*, роду *Orthopneumovirus*. Респираторно-

синцитиальная инфекция (РСИ) регистрируется во всех странах мира, где развито интенсивное животноводство и в первую очередь поражает молодых телят во время повторяющихся сезонных вспышек. Клинически заболевание характеризуется лихорадкой, кашлем и тахипноэ, часто быстро прогрессирующими до одышки. Геном вируса около 15 тыс. нуклеотидов, представлен одноцепочечной, несегментированной, отрицательной РНК. На основании антигенных свойств из-за различий в структуре белка G и других белков РСВ делится на две серогруппы А и В [8].

Вспышки респираторных заболеваний часто затрагивают телят в возрасте всего нескольких недель. Следует отметить, что представленные выше вирусные инфекции не только снижают общую резистентность организма животных, но и создают благоприятные условия для вторичной бактериальной колонизации, что усугубляет течение болезни и повышает риск летальных исходов [9]. Поэтому важно, чтобы вакцинация быстро индуцировала защиту от заболевания. Большинство телят в возрасте до 3 месяцев имеют циркулирующие материнские антитела, приобретенные через молозиво, которые не обеспечивают должной защиты от заболеваний, но могут влиять на эффективность системной вакцинации. При этом именно интраназальная вакцинация является методом, с помощью которого может быть быстро вызван иммунитет (обходя возможное влияние материнских антител) [10]. Установлено, что телята в возрасте от 3 до 8 дней способны формировать иммунный ответ слизистой оболочки, даже при наличии материнских антител [11]. Многочисленные исследования продемонстрировали эффективность интраназальной вакцинации в условиях материнских антител после заражения вирусами респираторных инфекций [12, 13]. В связи с вышеизложенным, разработка живой импортозамещающей высокоиммуногенной вакцины из аттенуированных штаммов возбудителей ИРТ, ПГ-3 и РС является актуальной задачей современной биотехнологии.

Целью данной работы являлась разработка ПЦР в реальном времени для выявления и количественной оценки вирусных нуклеиновых кислот для стандартизации условий производства интраназальной вакцины против респираторных болезней новорожденных телят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Нуклеотидные последовательности изолятов вирусов ИРТ, ПГ-3 и РСВ определены путем поисковых запросов из базы данных GenBank ресурсов NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/). Множественное выравнивание, дизайн олигонуклеотидов и положительного контрольного образца ПКО) осуществляли с использованием программы Vector NTI 9.1 (Invitrogen Corporation) как было описано ранее [14, 15]. Олигонуклеотидные праймеры, зонды, ПКО синтезированы в ЗАО «Евроген» (Россия).

В работе использовали штаммы вирусов ИРТ («ТК-А(ВИЭВ)-В2») и ПГ-3 («ПТК–45/86»), полученные из Государственной коллекции микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», и вакцинный штамм Lym-56 (живой аттенуированный вирус РСИ крупного рогатого скота, входящий в состав вакцины «Назим» «Laboratorios Hipra, S.A.», Испания; лиофилизат для приготовления суспензии для инъекций и для интраназального применения; каждая иммунизирующая доза вакцины (2 мл) содержит живой аттенуированный вирус РСИ КРС («штамм Lym-56») в количестве 104,7-6,5 CCID50*. (*CCID50: 50% инфицирующая доза для культуры клеток). Для получения вируссодержащего субстрата для репродукции вирусов ИРТ и ПГ-3 использовали перевиваемую линию культуры клеток легкого эмбриона коровы (ЛЭК), возбудителя РСИ – ЛЭК и перевиваемую линию культуры клеток почки телят (Т-1). Наработку биомассы вирусов осуществляли методами стационарного культивирования в стеклянных флаконах (матрасах) вместимостью 200 и 1500 $см^3$ с выходом вируссодержащей суспензии в объеме 20-30 $см^3$ и 120-150 $см^3$ соответственно. Зараже-

ние 2-3 суточной культуры клеток (после формирования монослоя) штаммами вирусов проводили после смены ростовой среды на поддерживающую. Для заражения использовали вирусы ИРТ и ПГ-3 с инфекционными титрами 6,0 lg $ТЦД_{50}/см^3$ соответственно, вирус РС – $10^{4,7-6,5}$ $CCID_{50}$ соответственно. Инфицированные культуры клеток инкубировали при температуре 37±0,5 ºС, ежедневно просматривали под микроскопом на наличие характерных морфологических (цитопатических) изменений клеток. Определение контаминации используемых культур клеток вирусом диареи крупного рогатого скота (ВД) и микоплазмами, проводили методом ПЦР-РВ с использованием разработанной ранее комбинации олигонуклеотидов и ПКО [16].

Оценку качества репликации вирусов ИРТ, ПГ-3 и РСИ на клеточных линиях оценивали путем определения инфекционных титров согласно общепринятой методике L. Reed и H. Muench [17] по прямому цитопатическому действию вируса на клетки и выражали в lg $ТЦД_{50}/см^3$ (50%-ная тканевая цитопатическая доза). Нуклеиновые кислоты (НК) выделяли из образцов культур клеток с помощью набора РИБО-преп (AmpliSens, Россия), согласно инструкции производителя. Вирусная РНК (ПГ-3 и РСВ) подвергалась обратной транскрипции с помощью MMLV – обратной транскриптазы (ЗАО «Евроген», Россия) в соответствии с инструкцией изготовителя. При поставке ПЦР-РВ применяли готовую реакционную смесь «5x qPCRmix-HS SYBR» (ЗАО «Евроген», Россия). Для расчета количества НК в образце подготовили серию образцов с 10-кратными разведениями разработанного положительного контрольного образца (которые при амплификации считали стандартами). Пересчет концентрации ДНК в количество копий молекулы проводили с использованием интернет ресурса MolBiol.ru (http://molbiol.ru/scripts/01_07.html). Количество НК вирусов в образцах определяли по показателям амплификатора (основанном на сопоставлении Ct анализируемого образца с Ct стандартных образцов).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Согласно требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации (ОФС.1.7.7.0004.15) все стадии процесса изготовления вакцин должны быть валидированны. В процессе разработки вакцин основополагающим этапом является использование рабочих посевных серий микроорганизмов, которые должны демонстрировать те же характеристики, что и штамм, из которого получена исходная посевная серия, а методы культивирования сохранять иммуногенные свойства вакцинных штаммов, обеспечивать безопасность препарата и предотвращать загрязнение посторонними вирусами, бактериями, грибами и микоплазмами. Данный подход гарантирует сохранение стабильности производственного процесса, а также обеспечивает соответствие конечного продукта стандартам качества и безопасности.

Идентификация штаммов, как правило, осуществляется с использованием комплекса молекулярно-биологических методов, таких как полимеразная цепная реакция (ПЦР), и секвенирование. В рамках настоящей работы была исследована возможность разработки способа ПЦР-РВ для количественного определения вирусных нуклеиновых кислот при стандартизации условий производства интраназальной вакцины против респираторных болезней новорожденных телят таких как ИРТ, ПГ-3 и РСИ.

При конструировании олионуклеотидов для индикации РСВ из базы данных GenBank были подгружены 83 нуклеотидные последовательности различных штаммов и генов данного вируса: OR426499.2, OM362454.1, AY910763.1, JN619455.1, AF188596.1, AY910765.1, OM362411.1, JN619434.1, AY507925.1, OM372493.1, AY910760.1, OM362457.1, PQ061836.1, MH133326.1, OM362455.1, JN619447.1, AF188602.1, AF188603.1, KF501152.1, OM362441.1, AY910755.1, KF501150.1, OP137023.1, AF188593.1, OP137027.1, OM362437.1, JN619433.1,

MN316655.1, JN619446.1, JN619435.1, OR426505.2, AY910764.1, MH133327.1, KY753468.1, OR426503.2, JN619450.1, KY753469.1, OM362409.1, AY910756.1, AY910758.1, JN619442.1, OP137018.1, MW711880.1, JN619441.1, MW711879.1, AY910757.1, JN619431.1, OM362419.1, JN619428.1, AF188601.1, AF188598.1, AF188591.1, AY910761.1, KY660261.1, AF188589.1, FJ543090.1, AF188595.1, KY753447.1, OM362456.1, KF501170.1, OP137028.1, OP137017.1, OM362442.1, MW892046.2, JN619452.1, MW892045.1, AF188597.1, AF188604.1, JN619436.1, JN619448.1, OP137021.1, OP137026.1, JN619426.1, OP137022.1, JN619427.1, JN619432.1, AF188594.1, JN619451.1, AF188588.1, JN619445.1, KY680329.1, OM372492.1, AF295543. По результатам множественного выравнивания указанных выше нуклеотидных последовательностей с целью подбора маркерного локуса, пригодного для выявления РСВ методом ПЦР, определили участок размером 97 п.н. расположенный в области от 4849 до 4945 п.н. гликопротеина G (обозначение относительно штамма ATCC 51908 (GeneBank ID AF295543)). Данный белок необходим для прикрепления РСВ к клетке-мишени и играют значимую роль для инфекционного процесса [18].

Для подбора маркерных локусов пригодных для выявления возбудителя ПГ-3 из базы данных GenBank были сохранены 57 нуклеотидных последовательностей: LC493020.1, LC493764.1, LC493017.1, LC493763.1, LC493022.1, LC493791.1, LC493001.1, LC493781.1, LC170484.1, LC493768.1, LC493021.1, LC493784.1, LC493024.1, LC506030.1, LC493012.1, LC170485.1, LC493782.1, LC493002.1, LC493789.1, LC493790.1, LC493011.1, LC493027.1, LC493014.1, LC493758.1, LC493025.1, LC506035.1, LC493004.1, LC493786.1, LC493015.1, LC493013.1, LC506036.1, LC170483.1, LC493787.1, LC493771.1, LC493762.1, LC170479.1, LC170480.1, LC493760.1, LC493793.1, LC506029.1, LC493792.1, LC493794.1, LC493016.1, LC493000.1, LC493007.1, LC493003.1, LC493783.1, LC493005.1, LC493026.1, LC493788.1, LC170482.1, LC493767.1, LC493779.1, LC506033.1, LC493019.1, LC506034.1., LC200422.1. В результате проведенного множественного выравнивания был идентифицирован специфический участок Р-гена (фосфопротеин) размером 130 п.н. в области от 2856 до 2985 п.н. (обозначение относительно штамма Tottori3c (GeneBank ID LC200422.1)). Р-ген является одним из шести открытых рамок считывания (ORFs) в геноме вируса ПГ-3 крупного рогатого скота. Есть данные, что, что открытая рамка считывания гена Р не только транслирует фосфопротеин, но также кодирует три неструктурных белка (V/C/D), которые непосредственно ингибируют выработку интерферона клеткой-хозяином [19].

Для подбора генов и локусов ДНК, пригодных для использования при индикации вируса ИРТ из базы данных GenBank были сохранены 91 нуклеотидная последовательность возбудителя, со следующими идентификационными номерами: PP236081.1, PP236080.1, PP236079.1, PP236078.1, PP236077.1, PP236076.1, PP236075.1, PP236074.1, PP236073.1, PP211010.1, PP211009.1, PP211008.1, PP211007.1, PP211006.1, PP211005.1, PP211004.1, PQ044364.1, PQ044363.1, PQ044362.1, PQ044361.1, PQ044360.1, PP341419.1, PP336330.1, PP336329.1, PP336328.1, PP336327.1, PP336320.1, OR765832.1, OR514873.1, OR567256.1, OQ784261.1, OQ784259.1, OQ656377.1, OQ656376.1, OQ161993.1, OQ161992.1, OP874961.1, OP594301.1, OP594300.1, OQ784260.1, OQ784263.1, OM803183.1, OQ784262.1, OR567257.1, OR574959.1, OR514871.1, OR514872.1, PP336321.1, PP336322.1, PP336323.1, PP336324.1, PP336325.1, PP336326.1, PP785375.1, PP785374.1, PP752093.1, PP752092.1, PP785376.1, PP785377.1, PQ044356.1, PQ044357.1, PQ044358.1, PQ044359.1, PQ044365.1, PQ044366.1, PQ408652.1, PQ408653.1, PQ408654.1, PQ539466.1, PP211003.1, PP211015.1, PP211014.1, PP277992.1, PP277990.1, MK919465.1,

PP952089.1, PP211012.1, PP211011.1, PP952088.1, PV533951.1, PP277989.1, PP277988.1, MK919466.1, PP211013.1, PP277991.1, PP211016.1, PP236068.1, PP236069.1, PP236070.1, PP236071.1, PP236072.1. Детальный анализ нуклеотидных последовательностей позволил выполнить дизайн олигонуклеотидных затравок для ПЦР-РВ, амплифицируемый участок размером 171 п.н локализовался в области от 8271 по 8341 п.н. (относительно isolate Moscow 1 deoxyuridine triphosphatase (UL50) gene, partial cds (GenBank: PQ044356.1)).

В пределах установленных специфических локусов для вирусов ИРТ, ПГ-3 и РСВ сконструировали олигонуклеотидные праймеры и зонды, представленные в таблице 1.

По результатам BLAST-анализа представленные в таблице 1 нуклеотидные последовательности праймеров и зондов не имели гомологии с ДНК крупного рогатого скота и основными вирусами, участвующими в этиологии респираторных болезней такими как вирус вирусной диареи, коронавирус, риновирус. При разработке ПКО была использована нуклеотидная последовательность, которая представляет собой чередование сконструированных праймеров и зондов для индикации вирусов ИРТ, ПГ-3 и РСИ. Схематично данная вставка имеет следующую структуру: «5`- RSV F, BGY F, RSV P, BGY P, комплиментарная последовательность (с) RSV R, cBGY R, BPIV3 F, BPIV3 P, cBPIV3 R -3`». Данная последовательность была синтезирована и клонирована в вектор pET28a(+) в компании «Евроген» (г. Москва). В результате конструирования длина вектора, содержащего маркерные последовательности для индикации всех определяемых вирусов, составила 5618 п.н. Характеристика сконструированной плазмиды и генетической вставки представлены на рисунке 1.

Таблица 1 – Сконструированные олигонуклеотиды, для проведения ПЦР-РВ

Вирус	Название праймера	Последовательности 5`- 3`	Положение в геноме, п.н.
ИРТ	BGY F	gacgatcagcccccgaagg	8271-8289
	BGY R	cggcagacgcccacgct	8325-8341
	BGY P	(Cy5)accaaacacgtagggcgcggca(BHQ3)	8304-8325
ПГ-3	BPIV3 F	ttacagaaagggcgattacattattacaga	2856-2885
	BPIV3 R	ttcgatgcagtatcygcattgtt	2963-2985
	BPIV3 P	(R6G)cattcgccacacayacaactctcttgtct(BHQ2)	2929-2957
РСВ	RSV F	ataaccttgacatcactcgtcataacagc	4849-4877
	RSV R	gtgtttgttggatggttggtttgg	4922-4945
	RSV P	(Rox)agtgtgggaaatgctaaagccaagcc(BHQ2)	4892-4916

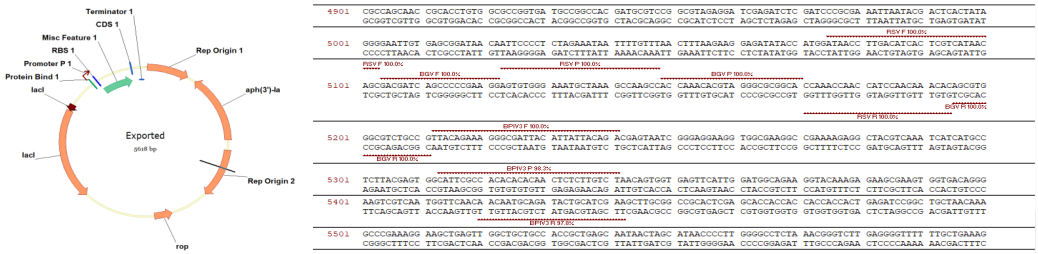


Рисунок 1 – Структура плазмидного вектора pET28a(+), содержащего маркерные последовательности для индикации вирусов ИРТ, ПГ-3 и РСИ.

С использованием ПКО провели серию экспериментов для оптимизации протокола ПЦР-РВ индикации вирусов ИРТ, ПГ-3 и РСВ, индивидуально для каждого генетического маркера. Оптимизированный состав реакционной смеси для индикации каждого из вирусов включал следующие компоненты в расчете на одну пробу (15 мкл): 5х gPCRmix HS SYBR – 3 мкл, праймеры и зонды по 0,5 мкл каждого (концентрация 10 пМ), ПКО – 5 мкл, H_2O – 5,5 мкл. Температурно-временной протокол проведения реакции амплификации был следующим: денатурации при 95 °С – 5 мин; 7 циклов: денатурацию ДНК – 94 °С 30 с, отжиг праймеров при 60 °С – 30 с; 35 циклов: денатурацию ДНК – 94 °С 30 с, отжиг праймеров при 60 °С – 30 с (детекция по каналам R6G, Cy5и ROX, соответственно флуоресцентной метке, указанной в таблице 1);

Для приготовления стандартных растворов плазмидной ДНК (ПКО) готовили растворы в десятикратных разведениях, от исходной концентрации 50 нг/мкл до концентрации 50 зг/мкл, с пересчетом концентрации ДНК в количество копий молекулы (таблица 2).

Минимальная концентрация плазмидной ДНК, при которой регистрировалась успешная амплификация составила 5 аг/мкл, что соответствовало разведению 10^{-10}, при котором в 1 мл раствора содержалось 826 молекул плазмидной ДНК. При этом эффективность амплификации составила 3-6 положительных реакций из 8 повторов. При определении концентрации нуклеиновых кислот выявляемых вирусов использовали (в виде стандартов для определения количественных показателей реакции) 8 десятикратных разведений с содержанием от 0,8 копий до 8 млн копий в 1 мкл раствора плазмидной ДНК (т.к. инфекционный титр исследуемых вирусов составлял от 4 до 6 lg ТЦД50/см3). Для ПЦР-РВ индикации штаммов вирусов ИРТ, ПГ-3 и РСВ применяли реакцию индивидуально для каждого генетического маркера с описанными ниже параметрами реакции. Состав реакционной смеси для индикации ПГ-3 и РСВ включал следующие компоненты в расчете на одну пробу (15 мкл): 5х gPCRmix HS SYBR – 3 мкл, праймеры и зонды по 0,5 мкл каждого (концентрация 10 пМ), MMLV revertase – 0,3 мкл, ПКО – 5 мкл, H_2O – 5,5 мкл; для ИРТ: 5х gPCRmix HS SYBR – 3 мкл, праймеры и зонды по 0,5 мкл каждого, ПКО – 5 мкл, H2O – 5,5 мкл. Температурно-временной протокол проведения реакции амплификации для ИРТ был следующим: денатурации при 95 °С – 5 мин; 7 циклов: денатурацию ДНК – 94 °С 30 с, отжиг праймеров при 60 °С – 30 с; 35 циклов: денатурацию ДНК – 94 °С 30 с, отжиг праймеров при 60 °С – 30 с (детекция по каналу Cy5); для ПГ-3 и РСВ состоял из обратной транскрипции при 37 °С в течение 10 мин; денатурации при 95 °С – 5 мин; 7 циклов: денатурацию ДНК – 94 °С 30 с, отжиг праймеров при 60 °С – 30 с; 35 циклов: денатурацию ДНК – 94 °С 30 с, отжиг праймеров (детекция по каналам R6G и ROX соответственно).

Таблица 2 – Количество копий ДНК в растворах стандартов для количественной ПЦР

Концентрация ДНК	Показатель разведения	Количество молекул плазмидной ДНК	Концентрация ДНК	Показатель разведения	Количество молекул плазмидной ДНК
50 нг/мкл	1	8 258 241 312/мкл	50 пг/мкл	10^{-3}	8 258 241/мкл
5 пг/мкл	10^{-4}	825 824/мкл	0,5 пг/мкл	10^{-5}	82 582/мкл
50 фг/мкл	10^{-6}	8 258/мкл	5 фг/мкл	10^{-7}	826/мкл
0,5 фг/мкл	10^{-8}	83/мкл	50 аг/мкл	10^{-9}	8/мкл
5 аг/мкл	10^{-10}	826/мл	0,5 аг/мкл	10^{-11}	83/мл
50 зг/мкл	10^{-12}	8/мл			

По результатам амплификации вируссодержащего материала, который в последующем будет применен для иммунизации лабораторных животных удалось установить следующие концентрации патогенов: ИРТ – 0,7-1,5 млн копий ДНК/мл, ПГ-3 – 0,1-0,5 млн копий РНК/мл и РСВ – 20-80 тыс. копий РНК/мл.

Разработанный способ определения количественного содержания вирусных НК на основе ПЦР-РВ благодаря своим характеристикам является перспективным подходом при организации производства вакцины для профилактики респираторных инфекций молодняка, а также обеспечивает соответствие конечного продукта стандартам качества.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведена работа по созданию набора компонентов для выявления и количественного определения вирусных НК при стандартизации условий производства интраназальной вакцины против респираторных болезней новорожденных телят таких как ИРТ, ПГ-3 и РСИ. Сконструированы комбинации праймеров и зондов (для каждого патогена индивидуально) позволяющие идентифицировать участок гликопротеина G вируса РСВ размером 97 п.н. расположенный в области от 4849 до 4945 п.н.; участок Р-гена возбудителя ПГ-3 (фосфопротеин) размером 130 п.н. в области от 2856 до 2985 п.н.; участок вируса ИРТ размером 171 п.н в области от 8271 по 8341 п.н.. По результатам BLAST -анализа разработанные нуклеотидные последовательности праймеров и зондов не имели гомологии с ДНК крупного рогатого скота и основными вирусами, участвующими в этиологии респираторных болезней такими как вирус вирусной диареи, коронавирус, риновирус. Создан и синтезирован ПКО, представляющий собой замкнутую в кольцо двухцепочную молекулу ДНК (5618 п.н.), содержащая нуклеотидную последовательность, состоящую из сконструированных праймеров и зондов для индикации вирусов ИРТ, ПГ-3 и РСИ. Схематично данная вставка имеет следующую структуру: «5`- RSV F, BGY F, RSV P, BGY P, cRSV R, cBGY R, BPIV3 F, BPIV3 P, cBPIV3 R -3`». С использованием ПКО определены оптимальные условия постановки количественной ПЦР-РВ и состав реакционной смеси. Минимальная концентрация плазмидной ДНК, при которой регистрировалась успешная амплификация составила 5 аг/мкл, что соответствовало разведению 10^{-10}, при котором в 1 мл раствора содержалось 826 молекул плазмидной ДНК. При этом эффективность амплификации составила 3-6 положительных реакций из 8 повторов.

По результатам амплификации вируссодержащего материала, который в последующем будет применен для иммунизации лабораторных животных удалось установить следующие концентрации патогенов: ИРТ – 0,7-1,5 млн копий ДНК/мл, ПГ-3 – 0,1-0,5 млн копий РНК/мл и РСВ – 20-80 тыс. копий РНК/мл.

Разработанный способ определения количественного содержания вирусных НК на основе ПЦР-РВ благодаря своим характеристикам является перспективным подходом при организации производства вакцины для профилактики респираторных инфекций молодняка, а также обеспечивает соответствие конечного продукта стандартам качества.

METHOD FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF VIRAL NUCLEIC ACIDS FOR STANDARDIZATION OF CONDITIONS FOR PRODUCTION OF AN INTRANASAL VACCINE AGAINST RESPIRATORY DISEASES IN NEWBORN CALVES

Khammadov N.I. [1,2] – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher (ORCID 0000-0001-5669-1486); **Gorbunova M.E.** [1] – Candidate of Biological Sciences, Researcher, (ORCID 0000-0002-0707-2117); **Tarasova E.Yu.** [1] – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher (ORCID 0000-0002-9056-5798); **Shangaraev R.I.** [1] – Candidate of Veterinary Sciences, Researcher, (ORCID 0000-0003-3689-1442); **Dupleva L.Sh.**[1] – Candidate of Biological Sciences, Senior researcher (ORCID 0000-0003-0915-3989); **Usoltsev K.V.** [1] – Candidate of Veterinary

Sciences, Leading Researcher (ORCID 0000 -0001-5279-9836); **Efimova M.A**.[1,2] – Doctor of Biological Sciences, Leading researcher (ORCID: 0000-0001-8786-1310)

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

[2] FSBEI HE «Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman»

* nikhammadov@mail.ru

ABSTRACT

The main criteria for evaluating vaccines are their immunogenicity, specific activity, and safety. The aim of this work was to develop real-time PCR for the detection and quantification of viral nucleic acids in order to standardize the production conditions for an intranasal vaccine against respiratory diseases in newborn calves. Combinations of primers and probes (for each pathogen individually) were designed to identify a 97 bp region of glycoprotein G of the respiratory syncytial virus (RSV) located in the range from 4849 to 4945 bp; a 130 bp region of the PI-3 pathogen P-gene in the range from 2856 to 2985 bp; a 171 bp locus.In the region from 8271 to 8341 bp, a PKO was created and synthesized, which is a double-stranded DNA molecule (5618 bp) closed in a ring, containing a nucleotide sequence consisting of engineered primers and probes for the indication of IRT, PI-3 and IBR viruses. Using PCO, the optimal conditions for quantitative PCR-RV and the composition of the reaction mixture were determined. The minimum concentration of plasmid DNA at which successful amplification was observed was 5 pg/μL, which corresponded to a dilution of 10-10, with 826 plasmid DNA molecules per mL of solution. According to the results of amplification of the virus-containing material, the following concentrations of pathogens were established: IBR – 0.7-1.5 million copies of DNA/ml, PI-3 – 0.1 -0.5 million copies of RNA/ml, and RSV – 20-80 thousand copies of RNA/ml. The developed method for determining the quantitative content of viral nucleic acids based on RT-PCR is a promising approach for the production of vaccines for the prevention of respiratory infections in young animals, as it ensures compliance with quality standards.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Акбашев И.Р., Садыкова С.В., Яшагина Л.М., Каримуллина И.Г., Хусаинова Г.И., Гумеров В.Г., Евстифеев В.В. Изучение антигенных свойств ассоциированной вакцины против ИРТ, ВД-БС, ПГ-3 и хламидиоза крупного рогатого на кроликах. Ветеринарный врач. 2024; 2: С. 39–42. https://doi.org/ 10.33632/1998-698X_2024_2_39

2. Karimullina I., Yarullin A., Mukhammadiev R., Mukhammadiev R., Mingaleev D., Khusainova G., Sorokina D., Gumerov V. Optimization of conditions for cultivation of pathogens of infectious rhinotracheitis and viral diarrhea. Bio web of conferences. 2024; 116: 06012. https://doi.org/ 10.1051/ bioconf/202411606012

3. Красочко П.А., Яромчик Я.П., Красочко И.А., Красочко П.П., Машеро В.А., Понаськов М.А., Притыченко А.В., Кучинский М.П. Оценка антигенной активности аттенуированных штаммов вирусов, используемых для изготовления вакцин для животных. Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. 2022; 58(4): 2-57. https://doi.org/ 10.52368/2078-0109-2022-58-4-52-57.

4. Valas S., Ngwa-Mbot D., Stourm S., Mémeteau S., Tabouret M. A retrospective evaluation of pooled serum ELISA testing in the frame of the French eradication program for infectious bovine rhinotracheitis. Preventive Veterinary Medicine. 2023; 214: 105890. https://doi.org/ 10.1016/ j.prevetmed.2023.105890

5. Barber K.A., Daugherty H.C., Ander S.E., Jefferson V.A., Shack L.A., Pechan T.., Nanduri B, Meyer F. Protein composition of the bovine herpesvirus 1.1 virion. Vet. Sci. 2017; 4(1): 11. https://doi.org/ 10.3390/ vetsci4010011

6. Rimayanti R., Khairullah A.R., Lestari T.D., Moses I.B., Utama S., Damayanti R., Mulyati S., Raharjo H.M., Kusala MKJ,

Raissa R., Wibowo S., Abdila S.R., Fauzia K.A., Yanestria S..M, Fauziah I., Siregar J.E. Infectious bovine rhinotracheitis: Unveiling the hidden threat to livestock productivity and global trade. Open Vet J. 2024; 14(10): 2525-2538. https://doi.org/ 10.5455/ OVJ.2024.v14.i10.3

7. Галиуллин А.К., Гумеров В.Г., Гильмутдинов Р.Я., Шаева А.Ю., Гериш Ашуак, Магдеева Э.А., Софронов П.В. Молекулярно-генетический анализ геномов вируса парагриппа-3 крупного рогатого скота. Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2023; 255(3): 92-99. https://doi.org/ 0.31588/2413_4201_1883_2_255_92.

8. Коровкин А.С., Горенков Д.В., Волгин А.Р. Профилактика респираторно-синцитиальной вирусной инфекции: современное состояние и перспект ивы разработки вакцин. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2024;24 (3):255–269. https://doi.org/10.30895/2221-996X-2024-24-3-255-26

9. West K., Petrie L., Konoby C., Haines D.M., Cortese V., Ellis J.A. The efficacy of modified-live bovine respiratory syncytial virus vaccines in experimentally infected calves. Vaccine. 1999; 18: 907–919. https:// doi.org/ 10.1016/s0264-410x(99)00324-2.

10. Xue W., Ellis J., Mattick D., Smith L., Brady R., Trigo E. Immunogenicity of a modified-live virus vaccine against bovine viral diarrhea virus types 1 and 2, infectious bovine rhinotracheitis virus, bovine parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus when administered intranasally in young calves. Vaccine.2010; 28 (22): P. 3784-3792. https://doi.org/ 10.1016/ j.vaccine.2010.03.043

11. Hill K.L., Hunsaker B.D., Townsend H.G., Griebel P.J. Mucosal immune response in newborn Holstein calves that had maternally derived antibodies and were vaccinated with an intranasal multivalent modified-live virus vaccine. J. Am. Vet. Med. Assoc. 2012; 240: 1231–1240. https://doi.org/ 10.2460/javma.240.10.1231

12. Chamorro M.F., Palomares R.A. Bovine respiratory disease vaccination against viral pathogens. Modified-live versus inactivated antigen vaccines, intranasal versus parenteral, what is the evidence? Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 2020; 36: 461–472. https://doi.org/ 10.1016/j.cvfa.2020.03.006

13. McNeff C.A., Robison C.A., Wilson B.K., White F.J., Cauble R., Biggs R., Salak-Johnson J.L., Beck P.A. Modified-live versus inactivated respiratory viral vaccines for revaccinating beef calves at weaning. Applied Animal Science. 2023; 39 (1): 1-13.

14. Хаммадов Н.И., Горбунова М.Е., Сальманова Г.Р., Фахрутдинов Н.А., Гулюкин А.М., Галеева А.Г., Громова Е.А. Конструирование специфических праймеров для ПЦР- диагностики классической чумы. Ветеринарный врач. 2024; 3:41-46. https://doi.org/ 10.33632/1998-698X_2024_3_41

15. Усольцев К.В., Шангараев Р.И., Хаертынов К.С., Горбунова М.Е., Хаммадов Н.И., Осянин К.А., Хамидуллина А.И. Дизайн праймеров для индикации патогенных лептоспир методом гнездовой полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2025; 2:95-106. https://doi.org/10.36871/ vet.zoo.bio.202502111

16. Хаммадов Н.И., Горбунова М.Е., Ефимова М.А., Усольцев К.В., Сальманова Г.Р., Шангараев Р.И., Тарасова Е.Ю. Дизайн специфических олигонуклеотидов для выявления контаминации культур клеток возбудителем вирусной диареи и микоплазмами при разработке интраназальной вакцины против респираторных болезней новорожденных телят. Ветеринарный врач. 2025; 3: 98-104. https:// doi.org/10.33632/1998-698X_2025_3_98

17. Reed L., Muench H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. American Journal of Epidemiology. 1938; 27(3): 493-497.

18. Кривицкая В.З., Синцова К.С., Петрова Е.Р., Сверлова М.В., Сорокин Е.В., Царева Т.Р., Комиссаров А.Б., Фадеев А.В., Писарева М.М., Бузицкая Ж.В., Афанасьева В.С., Суховецкая В.Ф., Сомининa А.А. Генетическая и антигенная характеристика штаммов респираторно-

синцитиального вируса, выделенных в Санкт-Петербурге в 2013-2016 гг. Вопросы вирусологии. 2017; 62(6): 273-282. http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-6-273-282
19. Ren Y., Chen X., Tang C.,Yue H. First isolation and characterization of a bovine parainfluenza virus type 3 genotype C strain from an aborted Holstein fetus. Front. Vet. Sci. 2025; 12:1598013. http://dx.doi.org/10.3389/fvets.2025.1598013.

REFERENCES

1. Akbashev I.R., Sadykova S.V., Yashagina L.M., Karimullina I.G., Khusainova G.I., Gumerov V.G., Evstifeev V.V. Study of antigenic properties of the associated vaccine against IRT, VD, PI-3 and chlamydia of cattle on laboratory rabbits. The Veterinarian. 2024; 2: C. 39–42. https://doi.org/10.33632/1998-698X_2024_2_39. (In Russ.)
2. Karimullina I., Yarullin A., Mukhammadiev R., Mukhammadiev R., Mingaleev D., Khusainova G., Sorokina D., Gumerov V. Optimization of conditions for cultivation of pathogens of infectious rhinotracheitis and viral diarrhea. Bio web of conferences. 2024; 116: 06012. https://doi.org/ 10.1051/bioconf/202411606012
3. Krasochko P.A., Yalomchik Ya.P., Krasochko I.A., Krasochko P.P., Mashero V.A., Ponaskov M.A., Pritichenko A.V., Kuchinsky M.P. Evaluation of the antigenic activity of attenuated virus strains used in the design of animal vaccines. Scientific Notes of the Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine. 2022; 58(4): 2-57. https://doi.org/ 10.52368/2078-0109-2022-58-4-52-57 (In Russ.)
4. Valas S., Ngwa-Mbot D., Stourm S., Mémeteau S., Tabouret M. A retrospective evaluation of pooled serum ELISA testing in the frame of the French eradication program for infectious bovine rhinotracheitis. Preventive Veterinary Medicine. 2023; 214: 105890. https://doi.org/ 10.1016/j.prevetmed.2023.105890
5. Barber K.A., Daugherty H.C., Ander S.E., Jefferson V.A., Shack L.A., Pechan T.., Nanduri B, Meyer F. Protein composition of the bovine herpesvirus 1.1 virion. Vet. Sci. 2017; 4(1): 11. https://doi.org/ 10.3390/vetsci4010011
6. Rimayanti R., Khairullah A.R., Lestari T.D., Moses I.B., Utama S., Damayanti R., Mulyati S., Raharjo H.M., Kusala MKJ, Raissa R., Wibowo S., Abdila S.R., Fauzia K.A., Yanestria S..M, Fauziah I., Siregar J.E. Infectious bovine rhinotracheitis: Unveiling the hidden threat to livestock productivity and global trade. Open Vet J. 2024; 14(10): 2525-2538. https://doi.org/ 10.5455/OVJ.2024.v14.i10.3
7. Galiullin A.K., Gumerov V.G., Gilmutdinov R.Ya., Shaeva A.Yu., Gerish Ashuak, Magdeeva E.A., Sofronov P.V. Molecular genetic analysis of genomes of bovine parainfluenza-3 virus. Scientific Notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. 2023; 255 (3): 92-99. https://doi.org/0.31588/2413_4201_1883_2_255_92. (In Russ.)
8. Korovkin A.S., Gorenkov D.V., Volgin A.R. Prevention of Respiratory Syncytial Virus Infection: Current Status and Prospects for Vaccine Development. BIOPREPARATIONS. Prevention, Diagnostics, Treatment. 2024;24(3):255–269. https://doi.org/10.30895/2221-996X-2024-24-3-255-269 (In Russ.)
9. West K., Petrie L., Konoby C., Haines D.M., Cortese V., Ellis J.A. The efficacy of modified-live bovine respiratory syncytial virus vaccines in experimentally infected calves. Vaccine. 1999; 18: 907–919. https://doi.org/ 10.1016/s0264-410x(99)00324-2
10. Xue W., Ellis J., Mattick D., Smith L., Brady R., Trigo E. Immunogenicity of a modified-live virus vaccine against bovine viral diarrhea virus types 1 and 2, infectious bovine rhinotracheitis virus, bovine parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus when administered intranasally in young calves. Vaccine.2010; 28 (22): P. 3784-3792. https://doi.org/ 10.1016/j.vaccine.2010.03.043
11. Hill K.L., Hunsaker B.D., Townsend H.G., Griebel P.J. Mucosal immune response in newborn Holstein calves that had maternally derived antibodies and were vaccinated with an intranasal multivalent modified-live

virus vaccine. J. Am. Vet. Med. Assoc. 2012; 240: 1231–1240. https://doi.org/ 10.2460/javma.240.10.1231
12. Chamorro M.F., Palomares R.A. Bovine respiratory disease vaccination against viral pathogens. Modified-live versus inactivated antigen vaccines, intranasal versus parenteral, what is the evidence? Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 2020; 36: 461–472. https://doi.org/ 10.1016/j.cvfa.2020.03.006
13. McNeff C.A., Robison C.A., Wilson B.K., White F.J., Cauble R., Biggs R., Salak-Johnson J.L., Beck P.A. Modified-live versus inactivated respiratory viral vaccines for revaccinating beef calves at weaning. Applied Animal Science. 2023; 39 (1): 1-13.
14. Khammadov N.I., Gorbunova M.E., Salmanova G.R., Fakhrutdinov N.A., Gulyukin A.M., Galeeva A.G., Gromova E.A. Design of specific primers for PCR diagnosis of classical swine fever. The Veterinarian. 2024; 3:41-46. https://doi.org/ 10.33632/1998-698X_2024_3_41. (In Russ.)
15. Usoltsev K.V., Shangaraev R.I., Khaertynov K.S., Gorbunova M.E., Khammadov N.I., Osyanin K.A., Khamidullina A.I. Design of primers for indication of pathogenic leptospira by nested polymerase chain reaction in real time. Veterinary, Zootechnics and Biotechnology. 2025; 2:95-106. https://doi.org/10.36871/vet.zoo.bio.202502111. (In Russ.)
16. Khammadov N.I., Gorbunova M.E. Efimova M.A., Usoltsev K.V., Salmanova G.R., Shangaraev R.I., Tarasova E.Yu. Design of specific oligonucleotides to detect contamination of cell cultures by the causative agent of viral diarrhea and mycoplasmas in the development of an intranasal vaccine against respiratory diseases of newborn calves. The Veterinarian. 2025; 3: 98-104. https://doi.org/10.33632/1998-698X_2025_3_98. (In Russ.)
17. Reed L., Muench H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. American Journal of Epidemiology. 1938; 27(3): 493-497.
18. Krivitskaya V.Z., Sintsova K.S., Petrova E.R., Sverlova M.V., Sorokin E.V., Tsareva T.R., Komissarov A.B., Fadeev A.V., Pisareva M.M., Buzitskaya Zh.V., Afanaseva V.S., Sukhovetskaya V.F., Sominina A.A. Genetic and antigenic characteristics of respiratory syncytial virus strains isolated in St. Petersburg in 2013-2016. Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal). 2017; 62(6): 273-282. http://dx.doi.org/ 10.18821/0507-4088-2017-62-6-273-282 (In Russ.).
19. Ren Y., Chen X., Tang C.,Yue H. First isolation and characterization of a bovine parainfluenza virus type 3 genotype C strain from an aborted Holstein fetus. Front. Vet. Sci. 2025; 12:1598013.

УДК: 619:616.9:363.7
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.27

РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО ИНФЕКЦИОННЫМ БОЛЕЗНЯМ ЖИВОТНЫХ И ПТИЦ НА ТЕРРИТОРИИ ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ В ПЕРИОД С 2015 ПО 2023 ГОДА

Батомункуев А.С.[1] – д-р ветеринар. наук, проф. (ORCID 0000-0002-2263-6355); **Мельцов И.В.**[1] – канд. ветеринар. наук, доц. (ORCID 0000-0001-8566-7004); **Сухинин А.А.**[2] – д-р биол. наук, проф. (ORCID 0000-0002-1245-3440)

[1] ФГБОУ ВО «Иркутский государственный аграрный университет имени А.А. Ежевского»
[2] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*sukhininalexandr@mail.ru

Ключевые слова: *инфекционные болезни, заболеваемость, серопозитивность, вакцинация, крупный и мелкий рогатый скот, лошади, свиньи, птица.*
Keywords: *infectious diseases, morbidity, seropositivity, vaccination, cattle and small ruminants, horses, pigs, poultry.*

Поступила: 07.08.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ
Поддержание стабильного благополучия животноводства страны в отношении эпизоотий инфекционных болезней является важнейшей задачей ветеринарной науки и практики, имеет первостепенное значение в защите здоровья и жизни животных и людей, обеспечении населения экологически безопасными продуктами питания, промышленности – качественным сырьем. Противоэпизоотические мероприятия следует разрабатывать с учетом знаний эпизоотической обстановки, полученных на основе анализа многолетних данных развития эпизоотического процесса по каждой инфекционной болезни в конкретной местности. Нами был проведен ретроспективный анализ заразной патологии животных и птиц на основании оценки эпизоотической ситуации и объема профилактических мероприятий в регионе. Статистическая обработка материалов проводилась в соответствии с общепринятыми методами, для измерения эпизоотологических проявлений отдельных нозологических форм и нозопрофиля определяли популяционные границы эпизоотического процесса, а также определяли уровень заболеваемости (отношение числа заболевших животных к общему числу восприимчивых животных соответствующего вида, %, у птиц $^{0}/_{0000}$). Объектами исследования служили крупный и мелкий рогатый скот, лошади, свиньи и птица. Объем проанализированных данных по диагностике инфекционных болезней животных и птиц за 2015-2023 гг. составил 11736393 исследований (КРС – 8731847, МРС – 597365, лошади – 639947, свиньи – 288400 и птиц – 1478834). Установлена структура инфекци-

онных болезней животных, ведущими нозоформами регистрировали: у крупного рогатого скота – лейкоз (1,49±0,25%, r=-0,943; p≤0,01), у мелкого рогатого скота – листериоз, у лошадей и свиней – лептоспироз (0,16±0,052%, r=0,14, p≤0,01 и 0,01±0,004%, r=0,09, соответственно). У птиц наиболее распространенными являются болезнь Ньюкасла и болезнь Марека.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Поддержание стабильного благополучия животноводства страны в отношении эпизоотий инфекционных болезней является важнейшей задачей ветеринарной науки и практики, имеет первостепенное значение в защите здоровья и жизни животных и людей, обеспечении населения экологически безопасными продуктами питания, промышленности – качественным сырьем [1, 2, 3, 4, 5]. Поэтому противоэпизоотические мероприятия следует разрабатывать с учетом знаний эпизоотической обстановки, полученных на основе анализа многолетних данных развития эпизоотического процесса по каждой инфекционной болезни в конкретной местности. Эффективное решение этой проблемы требует соответствующего информационного обеспечения, организации и реализации на практике системы эпизоотологического мониторинга [6, 7, 8, 9].

Эффективность эпизоотологического надзора за формированием нозологического профиля заразной патологии продуктивных животных и птиц во многом зависит от стандартизации методов оценки эпизоотической ситуации в регионе, измерения временных, территориальных и популяционных границ эпизоотического проявления конкретных инфекционных болезней животных [10, 11, 12].

Цель исследования – провести ретроспективный анализ инфекционной патологии животных и птиц, определить роль и место отдельных нозоформ в формировании нозологического профиля инфекционной патологии животных и птиц в регионе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Ретроспективный анализ эпизоотической ситуации по инфекционным болезням животных (крупный и мелкий рогатый скот, лошади, свиньи) и птиц на территории Иркутской области проводился по отчетным формам Службы ветеринарии Иркутской области, Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ВНИИЗЖ) в период с 2015 по 2023 года, а также лабораторий станций по борьбе с болезнями животных (СББЖ), расположенных на территории области. Статистическая обработка материалов проводилась в соответствии с общепринятыми методами [13]:

1. Для измерения эпизоотологических проявлений отдельных нозологических форм и нозопрофиля определяли популяционные границы эпизоотического процесса:

1.1 Определяли уровень заболеваемости (отношение числа заболевших животных к общему числу восприимчивых животных соответствующего вида, %, у птиц $^0/_{0000}$):

$$З = \frac{Ч_з}{Ч_ж} \times 100$$, где

З – заболеваемость; Чз – количество заболевших животных; Чж – поголовье животных соответствующего вида в Иркутской области.

1.2 Определяли процент серопозитивности (отношение числа выявления серопозитивных животных к общему числу восприимчивых животных соответствующего вида, %):

$$С = \frac{Ч_в}{Ч_{ож}} \times 100$$, где

С – серопозитивность; Чс – количество серопозитивных животных; Чж – поголовье животных соответствующего вида в Иркутской области.

2. Определение многолетней динамики заболеваемости и процента серопозитивности (глубина ретроспекции 9 лет) с использованием линейной линии тренда.

Для выполнения поставленных задач при анализе также использовали резуль-

таты бактериологических, вирусологических, серологических, молекулярно-генетических методов исследования, проводимых согласно стандартизованным общепринятым методикам.

В таблице 1 представлен объем проанализированных данных по диагностике инфекционных болезней животных и птиц за 2015-2023 гг. За данный период всего проведено 25489312 исследований (КРС – 8731849, МРС – 597365, лошади – 1082864, свиньи – 288400 и птиц – 1478834).

Таблица 1 – Объем данных по диагностике инфекционных болезней крупного рогатого скота в 2015-2023 гг. в Иркутской области

№	Бактериозы	n	№	Вирозы	n
1	Бруцеллез	2641248	1	Вирусная диарея	1103
2	Злокачественный отек	15	2	Злокачественная катаральная горячка	1
3	Кампилобактериоз	3842	3	Заразный узелковый дерматит*	890
4	Колибактериоз	54	4	Инфекционный ринотрахеит	977
5	Лептоспироз	28428	5	Катаральная лихорадка овец	170
6	Листериоз	24180	6	Коронавирусная инфекция	13
7	Паратуберкулез	359	7	Лейкоз**	2770119
8	Пастереллез	13	8	Парагрипп-3	612
9	Протейная инфекция	10	9	Ротавирусная	12
10	Сальмонеллез	290	10	Энтерококковая инфекция	2
11	Сибирская язва	153	11	Ящур	2160
12	Стафилококкоз	13	№	Микоплазмозы	n
13	Стрептококкоз	11	1	Контагиозная плевропневмония	1439
14	Туберкулез	3221094	2	Микоплазмоз	4
15	Хламидиоз	32594	№	Прионная инфекционная болезнь	n
16	Эмфизематозный карбункул	63	1	Губкообразная энцефалопатия	753
17	Энтерококковая инфекция	2	№	Микозы	n
	Всего	5952369	1	Трихофития	1225
				Всего	2779480

*Примечание.: * – в т.ч. ПЦР – 705, ИФА – 185; ** – в т.ч. проведено 31139 гематологических исследований, ИФА – 16028, ПЦР – 149, РИД – 2722803.*

Таблица 2 – Объем данных по диагностике инфекционных болезней мелкого рогатого скота в 2015-2023 гг. в Иркутской области

№	Бактериозы	n	№	Вирозы	n
1	Бруцеллез	550007	1	Катаральная лихорадка овец*	235
2	Инфекционный эпидидимит	9592	2	Чума мелких жвачных животных	242
3	Кампилобактериоз	1	№	Микозы	n
4	Листериоз	18653	1	Трихофития	1
5	Сальмонеллез	1			
6	Сибирская язва	102			
7	Туберкулез (аллергически)	8219			
8	Хламидиоз	10311			
9	Энтеротоксемия	1			
	Всего	596887		Всего	478

*Примечание: * – в том числе ИФА – 183, ПЦР – 52.*

Таблица 3 – Объем данных по диагностике инфекционных болезней лошадей в 2015-2023 гг. в Иркутской области

№	Бактериозы	n	№	Вирозы	n
1	Бруцеллез	201331	1	Инфекционная анемия лошадей	197029
2	Лептоспироз	9946	№	Микозы	n
3	Сальмонеллез	1	1	Микроспория	1
4	Сап*	219819			
5	Сибирская язва	3			
6	Туберкулез	11817			
	Всего	885934		Всего	197030

*Примечание: * – в том числе серологических исследований – 206031, аллергических – 13788.*

Таблица 4 – Объем данных по диагностике инфекционных болезней свиней в 2015-2023 гг. в Иркутской области

№	Бактериозы	n	№	Вирозы	n
1	Бруцеллез	61223	1	Африканская чума свиней*	8241
2	Лептоспироз	12843	2	Болезнь Ауески	485
3	Листериоз	11624	3	Классическая чума свиней**	949
4	Пастереллез	10	4	Репродуктивно - респираторный синдром свиней	485
5	Сальмонеллез	2	5	Трансмиссивный гастроэнтерит свиней	260
6	Сибирская язва	9	№	Микоплазмозы	n
7	Стафилококкоз	2	1	Микоплазмоз	1
8	Туберкулез	185699			
9	Хламидиоз	6567			
	Всего	277979		Всего	10421

*Примечание: * – в том числе ИФА – 7700, ПЦР – 541; ** – в том числе ИФА – 797, ПЦР – 152.*

Таблица 5 – Объем данных по диагностике инфекционных болезней птиц в 2015-2023 гг. в Иркутской области

№	Бактериозы	n	№	Вирозы	n
1	Орнитоз	2604	1	Болезнь Марека	34
2	Пастереллез	78	2	Болезнь Ньюкасла	100604
3	Сальмонеллез	37562	3	Грипп птиц*	38792
4	Тиф-пуллороз	1156945	4	Инфекционная анемия цыплят	28307
5	Туберкулез	715	5	Инфекционный бронхит кур	10894
№	Микоплазмозы	n	6	Инфекционный бурсит	13595
1	Респираторный микоплазмоз	348	7	Инфекционный ларинготрахеит кур	1758
			8	Инфекционный ринотрахеит	50943
			9	Инфекционный энцефаломиелит	2250
			10	Реовирусная болезнь птиц	29240
			11	Синдром снижения яйценоскости	4165
	Всего	1198252		Всего	280582

*Примечание: * – в том числе проведено 38730 серологических исследований, ПЦР – 62.*

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В период с 2015 по 2023 года на территории Иркутской области было диагностировано у крупного рогатого скота 18 инфекционных болезней (41821 положительных результатов): Лейкоз (39731, в т.ч. 1064 положительных проб по результатам гематологического исследования), Лептоспироз (1648), Туберкулез (162 случая, в том числе 96 в 2019 году и 59 в 2023 году), Хламидиоз (96), Эмфизематозный карбункул (59), Трихофития (56), Кампилобактериоз (24), Злокачественный отек (12), Колибактериоз, Протейная инфекция и Стафилококкоз (по 6), Б Стрептококкоз (4), Микоплазмоз и Пастереллез (по 3), Бруцеллез (2), Злокачественная катаральная горячка (1), Листериоз (1), Сальмонеллез (1).

Изучение структуры инфекционных болезней крупного рогатого скота на территории Иркутской области за 2015-2023 гг. позволило установить, что ведущей нозоформой является лейкоз. Оценка эпизоотической ситуации по лейкозу КРС по результатам серологических исследований на лейкоз поголовья КРС показало, что количество серопозитивных животных по области составило 1,49±0,25%.

Во временном аспекте установлено значимое снижение числа серопозитивных животных (r=-0,943; p≤0,01) (рис. 1). Так, в 2015 году процент инфицированного крупного рогатого скота составил 2,87% к общему поголовью; в 2020 году варьировал на уровне 1,34%, в 2023 году снизился до минимальных показателей за исследуемый период – до 0,58%.

Анализ исследований на лейкоз крупного рогатого скота в динамике за период 2015-2023 гг. различными методами диагностики показал снижение (p≤0,01) исследований животных методом РИД и ИФА (рис. 2).

В то же время использование гематологических методов диагностики характеризовалось также динамикой снижения количества исследований (рис. 3).

При проведении гематологических исследований в Иркутской области больными признано 1073 животных. Процент больных лейкозом животных составил 0,04±0,011%. Установлена динамика значимого (p≤0,01) снижения количества больных лейкозом (r=-0,94) (рис. 4).

Максимальное количество больных лейкозом наблюдалось в 2015 г. (0,11%), минимальное – 2021 и 2023 гг. (на уровне 0,014-0,016%).

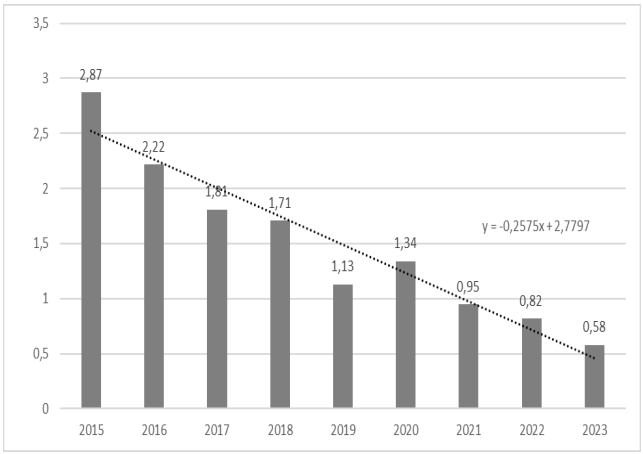


Рисунок 1 – Динамика инфицированности ВЛ КРС на территории Иркутской области в 2015-2023 гг., %.

Примечание: r=-0,99; p≤0,01.

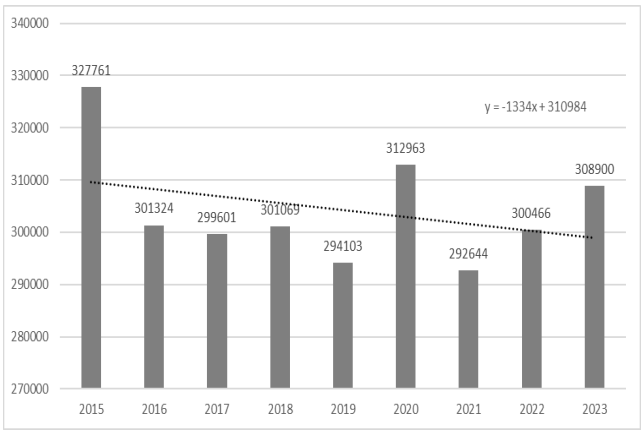


Рисунок 2 – Динамика проведения серологических исследований ВЛКРС-инфекции в Иркутской области в 2015-2023 гг.

Примечание: r=-0,337; p≤0,01.

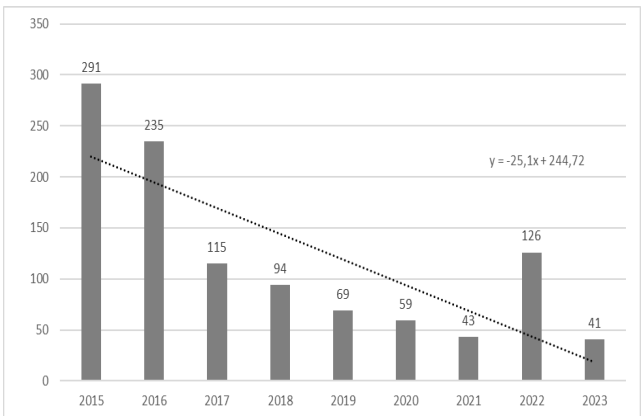


Рисунок 3 – Динамика проведения гематологических исследований ВЛ КРС-инфекции в Иркутской области в 2015-2023 гг.

Примечание: r= -0,952; p≤0,01.

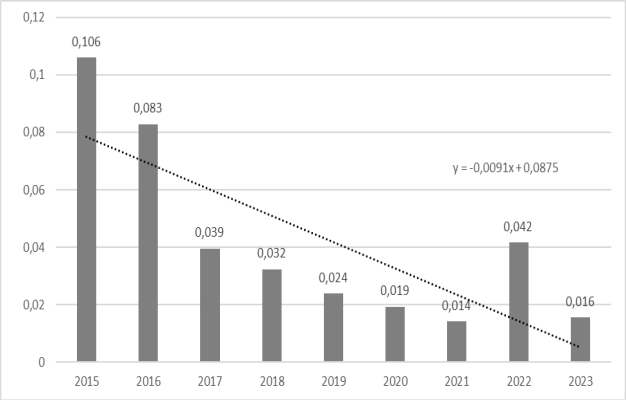


Рисунок 4 – Количество больных лейкозом КРС в Иркутской области по данным гематологических исследований в 2015-2023 гг., %.

Примечание: r=-0,661; p≤0,01.

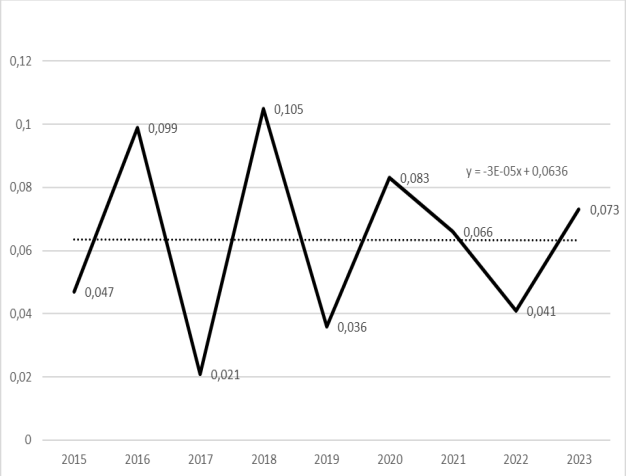


Рисунок 5 – Количество крупного рогатого скота, серопозитивного к Leptospira ssp. в Иркутской области в 2015-2023 гг., %.

Второй по распространенности нозоформой среди крупного рогатого скота регистрировался лептоспироз. В результате проведения серологических исследований установлено, что доля реагирующего на лептоспироз крупного рогатого скота составила 0,06±0,010% к общему поголовью. Весь период наблюдения (2015-2023 гг.) характеризовался выраженной цикличностью, с некоторой тенденцией к повышению доли крупного рогатого скота, серопозитивного к *Leptospira ssp.* (рис. 5). Наиболее высокие показатели положительно реагирующего КРС отмечались в 2016, 2018 и 2020 годах и составляли 0,09, 0,11, и 0,08% соответственно.

За исследуемый период в Иркутской области было зарегистрировано четыре инфекционные болезни у мелкого рогатого скота, с общим числом положительных результатов исследований в 26 случаев. Отдельно стоит отметить: в 2015 году из 6973 исследованных проб на листериоз 22 показали положительный результат. При исследовании 40 проб на катаральную лихорадку овец в 2022 году методом ИФА было установлено 2 положительных случая. Однако, последующее ПЦР-тестирование не подтвердило наличие болезни. В 2017 году у одной головы МРС был поставлен диагноз на энтеротоксемию.

В Иркутской области в период с 2015 по 2023 год у лошадей было выявлено 6 инфекционных болезней, всего 982 слу-

чая. Анализ данных за этот период показал, что лептоспироз является ведущей нозоформой среди лошадей в регионе – 589 случаев, за ним следуют сап (9 случаев в 2020 году, мероприятия проведены на основании ветеринарных правил, приказ №311), инфекционная анемия (5 случаев), бруцеллез (3 случая) и сальмонеллез (1 случай). При анализе многолетних данных установлено, что средний процент лошадей, серопозитивных к *Leptospira ssp.* составил 0,16±0,052% (r=0,14; p≤0,01) (рис. 6).

В течение исследуемого периода наблюдались значительные колебания этого показателя (p≤0,05). Если в 2015-2019 годах он находился в диапазоне от 0,06% до 0,04%, то в 2020 и 2021 годах был зафиксирован максимальный уровень (0,42% и 0,40% соответственно). В последующие годы, 2022 и 2023, показатели вернулись к значениям, характерным для начального периода исследований.

У свиней за исследуемый период выявили 7 инфекционных болезней, 194 положительные пробы. Как и у лошадей, ведущей нозоединицей у свиней являлся лептоспироз – 181 положительный результат, африканская чума свиней (6 случаев в 2017 году, мероприятия проведены на основании утвержденных ветеринарных правил, приказ №213), пастереллез и туберкулез (по 2); микоплазмоз, репродуктивно-респираторный синдром и стафилококкоз (по 1).

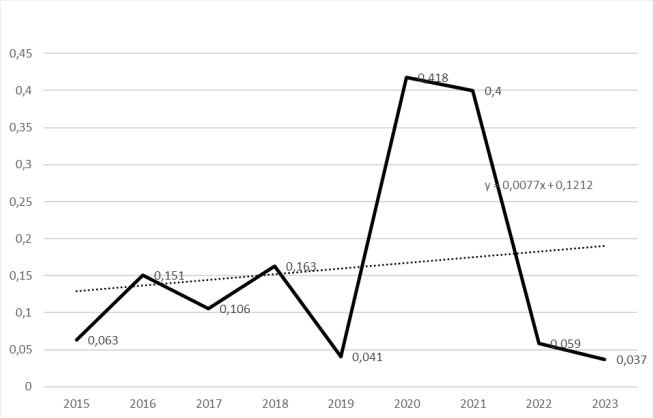


Рисунок 6 – Количество лошадей, серопозитивного к Leptospira ssp. в Иркутской области в период с 2015 по 2023 года, %.

Примечание: r=0,14; p≤0,01.

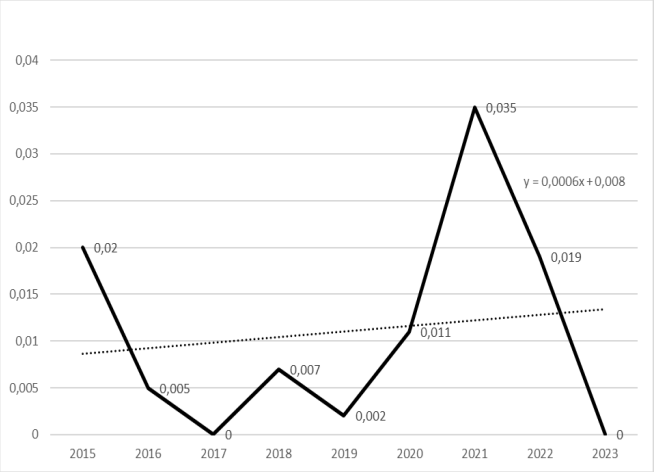


Рисунок 7 – Количество свиней, серопозитивное к Leptospira ssp. в Иркутской области в период с 2015 по 2023 года, %.

Проведенные исследования показали, что средний показатель серопозитивности при лептоспирозе свиней составил 0,01±0,004% (r=0,09). Лептоспироз регистрировался практически ежегодно, в течение всего периода наблюдения, уровень серопозитивности характеризовался выраженной вариабельностью, с определенной тенденцией к снижению (рис. 7).

В период с 2015 по 2023 года эпизоотическая ситуация среди поголовья птиц была менее напряженной. У птиц зафиксировано 8 инфекционных болезней, общее число случаев которых составило 87. Наиболее распространенными являются болезнь Ньюкасла (57 случаев в 2021 году) и болезнь Марека (19 случаев). Также выявлены случаи инфекционного бурсита (3 случая), колибактериоза, орнитоза, респираторного микоплазмоза и сальмонеллеза, по два случая каждого из этих заболеваний.

Анализ эпизоотологической ситуации по болезни Марека показал, что показатель заболеваемости птиц составил 2,85±1,264 на 100000 поголовья. Заболеваемость птиц болезнью Марека характеризовалась повышением в 3 раза с начала периода наблюдения до 2017 г. (от 3,86 до $10,66^{0}/_{0000}$); затем к 2018 году – понижением до $7,14^{0}/_{0000}$. В 2022 году имело место незначительное повышение $2,63^{0}/_{0000}$ с последующим снижением уровня заболеваемости (r=-0,35; p≤0,01) (рис. 8).

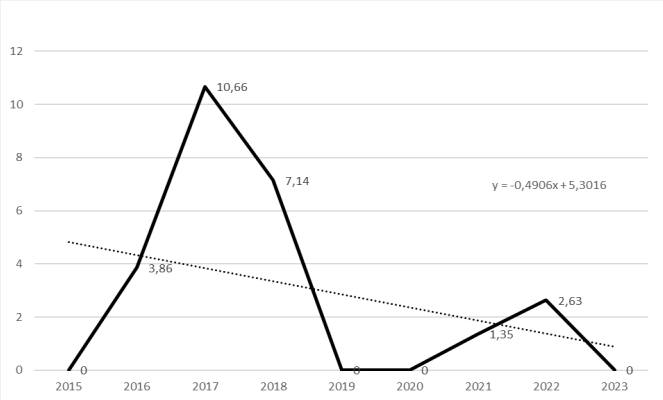


Рисунок 8 – Показатель заболеваемости птиц болезнью Марека в Иркутской области в 2015-2023 гг., на 100000 поголовья.

Примечание: r=-0,34; p≤0,01.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Изучение структуры инфекционных болезней крупного рогатого скота на территории Иркутской области за 2015-2023 гг. позволило установить, что ведущей нозоформой является лейкоз. Оценка эпизоотической ситуации по лейкозу КРС по результатам серологических исследований на лейкоз поголовья КРС показало, что количество серопозитивных животных по области составило 1,49±0,25%. Второй по распространенности нозоформой среди крупного рогатого скота регистрировался лептоспироз. В результате проведения серологических анализов установлено, что доля реагирующего на лептоспироз крупного рогатого скота составила 0,06±0,010% к общему поголовью.

За исследуемый период в Иркутской области было зарегистрировано четыре инфекционные болезни у мелкого рогатого скота, с общим числом положительных результатов исследований в 26 случаев. Отдельно стоит отметить: в 2015 году из 6973 исследованных проб на листериоз 22 показали положительный результат. При исследовании 40 проб на катаральную лихорадку овец в 2022 году методом ИФА было установлено 2 положительных случая. Однако, последующее ПЦР-тестирование не подтвердило наличие болезни. В 2017 году у одной головы МРС был поставлен диагноз на энтеро-

токсемию.

Анализ данных за этот период показал, что лептоспироз является ведущей нозоформой среди лошадей в регионе – 589 случаев, при анализе многолетних данных установлено, что средний процент лошадей, серопозитивных к *Leptospira spp.* составил 0,16±0,052% (r=0,14; p≤0,01). Лептоспироз также наблюдается ведущей нозоединицей среди поголовья свиней, средний показатель которого составил 0,01±0,004% (r=0,09). Лептоспироз регистрировался практически ежегодно, в течение всего периода наблюдения, уровень серопозитивности характеризовался выраженной вариабельностью, с определенной тенденцией к снижению.

В период с 2015 по 2023 года эпизоотическая ситуация среди поголовья птиц была менее напряженной. У птиц зафиксировано 8 инфекционных болезней, общее число случаев которых составило 87. Наиболее распространенными являются болезнь Ньюкасла (57 случаев в 2021 году) и болезнь Марека (19 случаев). Также выявлены случаи инфекционного бурсита (3 случая), колибактериоза, орнитоза, респираторного микоплазмоза и сальмонеллеза, по два случая каждого из этих заболеваний.

A RETROSPECTIVE ANALYSIS OF THE EPIZOOTIC SITUATION OF INFECTIOUS DISEASES OF ANIMAL AND BIRDS IN THE IRKUTSK REGION FROM 2015 TO 2023

Batomunkuev A.S.[1] – Doctor of Veterinary Sciences, Professor (https://orcid.org/0000-0002-2263-6355); **Meltsov I.V.**[1] – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor (https://orcid.org/0000-0001-8566-7004); **Sukhinin A.A.** – Doctor of Biological Sciences, Professor (https://orcid.org/0000-0002-1245-3440)

[1]A.A. Ezhevsky Irkutsk State Agrarian University

[2]Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine

*sukhininalexandr@mail.ru

ABSTRACT

Maintaining the stable well-being of the country's livestock industry with respect to infectious disease epizootics is a crucial task for veterinary science and practice. It is of paramount importance in protecting the health and lives of animals and humans, providing the population with environmentally safe food products, and providing industry with high-quality raw materials. Anti-epidemic measures should be developed taking into account the epizootic situation, obtained through the analysis of long-term data on the development of the epizootic process for each infectious disease in a specific area. We conducted a retrospective analysis of infectious pathologies in animals and birds based on an assessment of the epizootic situation and the scope of preventive measures in the region. Statistical processing of the data was carried out in accordance with generally accepted methods. To measure the epizootic manifestations of individual nosological forms and the nosological profile, we determined the population boundaries of the epizootic process and determined the incidence rate (the ratio of the number of sick animals to the total number of susceptible animals of the corresponding species, %; for birds, 0/0000). The study subjects were cattle, small ruminants, horses, pigs, and poultry. The volume of analyzed data on the diagnostics of infectious diseases of animals and birds for 2015-2023 amounted to 11,736,393 studies (cattle – 8,731,847, small ruminants – 597,365, horses – 639,947, pigs – 288,400, and poultry – 1,478,834). The structure of infectious diseases of animals was established, the leading nosological entities were: leukemia in cattle (1.49±0.25%, r=-0.943; p≤0.01), listeriosis in small ruminants, leptospirosis in horses and pigs (0.16±0.052%, r=0.14, p≤0.01 and 0.01±0.004%, r=0.09, respectively). In birds, the most common are Newcastle disease and Marek's disease.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Гулюкин, М.И. Итоги научно-исследовательских работ по программе фундаментальных исследований по науч-

ному обеспечению развития АПК на 2006 -2010 гг. / М.И. Гулюкин // Труды ВИЭВ. – 2010. –Т.76. – С. 7-23.
2. Иванов, А.В. Актуальные проблемы биологической безопасности / А.В. Иванов, А.Н. Чернов, А.А. Иванов // Ветеринарная медицина. – 2010. – № 94. – С. 28-30.
3. Лучкин, А.Г. Инфекционная и инвазионная патология животных - составляющая суммарной их патологии/ А.Г Лучкин, В.Н. Тиханов, З.С. Кирзон [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2017. – № 2. – С. 39-44.
4. Шкуратова, И.А. Научное обеспечение ветеринарной безопасности на территории Уральского региона / И. А. Шкуратова, О. В. Соколова, М. В. Ряпосова [и др.] // Известия Национальной Академии наук Кыргызской Республики. – 2020. – № 2. – С. 10-16.
5. Печура, Е. В. Эпизоотические особенности и региональная система оздоровительных мероприятий при актуальных инфекциях продуктивных животных (на примере Уральского региона): специальность 06.02.00 "Ветеринария и Зоотехния": диссертация на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук / Е. В. Печура. – Екатеринбург, 2022. – 391 с.
6. Сочнев, В.В. Экспертная оценка мониторинговых показателей доминирующих нозоформ в заразной патологии животных в конкретных территориальных границах/ В.В. Сочнев, В.М. Авилов, Ю.В. Пашкина// Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2017. – № 1. – С. 36-40.
7. Батомункуев, А.С. Вирусные инфекционные болезни крупного рогатого скота в Иркутской области / А.С. Батомункуев, Ю.А. Гретченко // Вестник ИрГСХА. – 2020. – № 101. – С. 112 – 119
8. Эффективность научно-обоснованных программ мониторинга и лечебно-профилактических мероприятий при управляемых инфекционных болезнях животных / А. П. Порываева, Е. В. Печура, О. Г. Петрова [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2023. – № 4. – С. 96-110. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.4.96. – EDN KIKEFW.
9. Мельцов, И. В. Эпизоотология и инфекционные болезни животных: организация противоэпизоотических мероприятий в Иркутской области: Учебное пособие для студентов, обучающихся по специальности 36.05.01 Ветеринария и направления подготовки 36.03.01 Ветеринарно-санитарная экспертиза (уровень бакалавриата) / И. В. Мельцов, А. С. Батомункуев. – Молодежный: Иркутский государственный аграрный университет имени А.А. Ежевского, 2024. – 243 с.
10. Анализ эпидемической и эпизоотической ситуации по бруцеллезу в мире в 2019 г. и прогноз на 2020 г. в Российской Федерации/ Д.Г Пономаренко, Д.В. Русанова, А.А. Хачатурова, О.Н. Скударева [и др]// Проблемы особо опасных инфекций. 2020. № 2. - С.48-56.
11. Батомункуев, А. С. Эпизоотологический надзор за бактериальными и вирусными инфекционными болезнями сельскохозяйственных животных на территории Иркутской области: диссертация на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук / Батомункуев Алдар Содномишиевич, 2023. – 311 с.
12. Мельцов, И. В. Клостридиозы крупного и мелкого рогатого скота: эпизоотология, таксономия и антибиотикорезистентность возбудителей в Иркутской области / И. В. Мельцов, А. С. Батомункуев // Достижения науки и техники АПК. – 2024. – Т. 38, № 5. – С. 42-47. – DOI 10.53859/02352451_2024_38_5_42.
13. Аблов, А.М. Применение статистических методов при анализе эпизоотической ситуации по инфекционным болезням животных и птиц: методические рекомендации / А.М. Аблов, А.С. Батомункуев, Е.В. Анганова, И.В. Мельцов. – Иркутск. – 2014. – 25 с.

REFERENCES

1. Gulyukin, M.I. Results of research work on the program of fundamental research on scientific support for the development of the agro-industrial complex for 2006-2010 / M.I. Gulyukin // Proceedings of VIEV. - 2010. -

Vol. 76. - P. 7-23.
2. Ivanov, A.V. Actual problems of biological safety / A.V. Ivanov, A.N. Chernov, A.A. Ivanov // Veterinary medicine. - 2010. - No. 94. - P. 28-30.
3. Luchkin, A.G. Infectious and invasive pathology of animals - a component of their total pathology / A.G. Luchkin, V.N. Tikhanov, Z.S. Kirzon [et al.] // Issues of normative-legal regulation in veterinary medicine. – 2017. – No. 2. – P. 39-44.
4. Shkuratova, I.A. Scientific Support for Veterinary Safety in the Ural Region / I.A. Shkuratova, O.V. Sokolova, M.V. Ryaposova [et al.] // Bulletin of the National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic. – 2020. – No. 2. – P. 10-16.
5. Pechura, E.V. Epizootic Features and Regional System of Health-Related Measures for Current Infections in Food-Producing Animals (using the Ural Region as an example): specialty 06.02.00 "Veterinary Science and Animal Science": dissertation for the degree of Doctor of Veterinary Sciences / E.V. Pechura. – Yekaterinburg, 2022. – 391 p.
6. Sochnev, V.V. Expert assessment of monitoring indicators of dominant nosoforms in infectious animal pathology within specific territorial boundaries / V.V. Sochnev, V.M. Avilov, Yu.V. Pashkina // Issues of regulatory framework in veterinary medicine. - 2017. - No. 1. - P. 36-40.
7. Batomunkuev, A.S. Viral infectious diseases of cattle in the Irkutsk region / A.S. Batomunkuev, Yu.A. Gretchenko // Bulletin of the Irkutsk State Agricultural Academy. – 2020. – No. 101. – P. 112 – 119
8. Effectiveness of science-based monitoring programs and treatment and preventive measures for controlled infectious diseases of animals / A. P. Poryvaeva, E. V. Pechura, O. G. Petrova [et al.] // International Veterinary Bulletin. – 2023. – No. 4. – P. 96-110. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.4.96. – EDN KIKEFW.
9. Meltsov, I. V. Epizootology and infectious diseases of animals: organization of anti-epidemic measures in the Irkutsk region: Textbook for students studying in the specialty 36.05.01 Veterinary science and training areas 36.03.01 Veterinary and sanitary examination (bachelor's degree level) / I. V. Meltsov, A. S. Batomunkuev. - Youth: Irkutsk State Agrarian University named after A. A. Ezhevsky, 2024. - 243 p.
10. Analysis of the epidemic and epizootic situation for brucellosis in the world in 2019 and the forecast for 2020 in the Russian Federation / D. G. Ponomarenko, D. V. Rusanova, A. A. Khachaturova, O. N. Skudareva [and others] // Problems of especially dangerous infections. 2020. No. 2. - P. 48-56.
11. Batomunkuev, A. S. Epizootological surveillance of bacterial and viral infectious diseases of farm animals in the Irkutsk region: dissertation for the degree of Doctor of Veterinary Sciences / Batomunkuev Aldar Sodnomishievich, 2023. - 311 p.
12. Meltsov, I. V. Clostridioses of cattle and small ruminants: epizootology, taxonomy and antibiotic resistance of pathogens in the Irkutsk region / I. V. Meltsov, A. S. Batomunkuev // Achievements of science and technology in the agro-industrial complex. - 2024. - Vol. 38, No. 5. - P. 42-47. – DOI 10.53859/02352451_2024_38_5_42.
13. Ablov, A.M. Application of statistical methods in the analysis of the epizootic situation for infectious diseases of animals and birds: methodological recommendations / A.M. Ablov, A.S. Batomunkuev, E.V. Anganova, I.V. Meltsov. – Irkutsk. – 2014. – 25 p.

УДК: 636.22/22.082
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.39

ЭПИЗООТИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО СИБИРСКОЙ ЯЗВЕ И НЕКРОБАКТЕРИОЗУ СЕВЕРНЫХ ОЛЕНЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ САХА (ЯКУТИЯ)

Винокуров И.Е. [1] – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. лаборатории селекции и разведения лошадей; **Слепцов Е.С.** [1*] – д-р ветеринар. наук, гл. науч. сотр. лаборатории оленеводства и традиционных отраслей; **Корякина Л.П.** [2] – канд. ветеринар. наук, доц., зав. каф. физиологии с.-х. животных и экологии; **Саввинова М.С.**[2] – д-р ветеринар. наук, проф. кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы и гигиены; **Алферов И.В.** [1] – канд. с.-х. наук, ст. науч. сотр. лаборатории селекции и разведения лошадей

[1] ФГБУН ФИЦ «Якутский научный центр СО РАН» - Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. М.Г. Сафронова
[2] ФГБОУ ВО «Арктический государственный агротехнологический университет»

*evgeniycemenovic@mail.ru

Ключевые слова: *сибирская язва, некробактериоз, северный олень, эпизоотологический мониторинг, Республика Саха (Якутия), вакцинопрофилактика, зоонозные инфекции.*

Keywords: *anthrax, necrobacillosis, reindeer, epizootic monitoring, Republic of Sakha (Yakutia), vaccine prophylaxis, zoonotic infections.*

Поступила: 06.06.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Настоящее исследование представляет собой комплексный анализ эпизоотической ситуации по сибирской язве и некробактериозу на территории Республики Саха (Якутия) за период - с 1890 по 2014 годы. В работе использованы данные многолетнего ветеринарного мониторинга, архивные материалы и полевые исследования, охватывающие динамику заболеваемости, географическое распространение и факторы, влияющие на циркуляцию возбудителей этих опасных инфекций. Результаты исследования показывают о сохраняющейся эндемичности сибирской язвы в регионе, особенно среди популяций северных оленей. За анализируемый период зафиксированы масштабные вспышки заболевания, наиболее значительные из которых произошли в 1969, 1980 и 1993 годах. Особую эпидемиологическую опасность представляют неучтенные захоронения павших животных - из 285 зарегистрированных сибиреязвенных захоронений точное местоположение установлено лишь для 75 объектов. Анализ пространственного распределения показывает выраженную зональность эпизоотического процесса с максимальным риском в лесотундровой и горно-складчатой зонах. Параллельно нами исследована эпизоотология некробактериоза, который наносит значительный экономический ущерб оленеводству республики. За последние пять лет наблюдений зарегистрировано 48 138 случаев заболевания с летальностью 19,8%. Установлена чет-

кая сезонность проявления болезни с пиком в июле-августе, что коррелирует с активностью кровососущих насекомых - потенциальных переносчиков инфекции. Показано, что системная вакцинация с использованием современных препаратов позволяет существенно снизить заболеваемость. Однако сохраняются проблемы, связанные с труднодоступностью отдельных районов и недостаточным охватом вакцинацией диких животных. Полученные результаты имеют важное прикладное значение для разработки научно обоснованных мер по контролю зоонозных инфекций в арктических регионах.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Оленеводство в арктических и субарктических регионах России, включая Республику Саха (Якутия), является важной отраслью сельского хозяйства, обеспечивающей экономическую стабильность и продовольственную безопасность местных сообществ. Однако рентабельность оленеводства невозможна без эффективной защиты северных оленей (*Rangifer tarandus*) от инфекционных и инвазионных заболеваний, среди которых сибирская язва (*Bacillus anthracis*) и некробактериоз (*Fusobacterium necrophorum*) представляют наибольшую угрозу [1]. Эти заболевания наносят значительный экономический ущерб из-за высокой смертности, снижения продуктивности и затрат на ветеринарные мероприятия, а также создают риск для здоровья человека из-за зооантропонозного потенциала сибирской язвы [2].

Сибирская язва — особо опасная инфекционная болезнь, характеризующаяся острым течением, септицемией, тяжелой интоксикацией и образованием карбункулов. Возбудитель, *Bacillus anthracis*, представляет собой неподвижную грамположительную палочку (1,0–1,3 мкм в ширину и 3–10 мкм в длину), существующую в капсульной, вегетативной бескапсульной и споровой формах, что обеспечивает его высокую устойчивость во внешней среде, особенно в почвенных очагах [3]. Споры *B. anthracis* способны сохраняться десятилетиями, формируя стационарные очаги инфекции, которые особенно распространены в северных регионах России, включая Якутию [4]. Первые документально подтвержденные случаи сибирской язвы в Якутии относятся к 1811 году, когда в Колымском округе погибло 175 лошадей и 8 голов крупного рогатого скота. В последующие годы, вплоть до 1993 года, эпизоотии регистрировались почти ежегодно, с наиболее тяжелыми вспышками в 1861, 1884 и 1909–1941 годах, включая эпизоотию 1884 года, уничтожившую 7326 голов животных [5]. По данным Всемирной организации здравоохранения, ежегодно в мире сибирской язвой заболевает около 1 млн голов скота и до 2000 человек, при этом в России с 1994–1995 годов число неблагополучных пунктов сократилось до 30 в год, преимущественно среди невакцинированного или несвоевременно вакцинированного скота [6]. В Якутии эпизоотическая ситуация осложняется природно-климатическими условиями, труднодоступностью территорий и наличием старых почвенных очагов, что требует ежегодной вакцинации и строгого соблюдения ветеринарно-санитарных мероприятий [1].

Некробактериоз, вызываемый строгим анаэробом *Fusobacterium necrophorum*, является еще одной значимой проблемой оленеводства [7], особенно в регионах с интенсивным животноводством, таких как Якутия, Магаданская область и Чукотка. Возбудитель, не образующий спор и капсул, обладает липополисахаридным эндотоксином, определяющим его патогенность, и сохраняется в почве до 30 суток, в экскрементах — до 50 суток, в патологическом материале — до 35 суток [8]. Некробактериоз характеризуется гнойно-некротическими поражениями, преимущественно дистальных отделов конечностей, и носит выраженный сезонный характер, с пиком заболеваемости в июле–августе, обусловленным высокими температурами, активностью кровососущих насекомых и стресс-факторами, такими как истощение и нарушение режима выпаса [9]. В Якутии заболевание ежегодно поражает 3–6% поголовья оленей, а в отдельные годы — до 10%, с летально-

стью до 60–70% среди молодняка [10]. Исторически некробактериоз, известный как «копытная болезнь», наносил катастрофический ущерб: в 1896 году в Архангельской губернии было потеряно около половины стада оленей (150 800 голов). Желудочно-кишечный тракт оленей, особенно преджелудки, служит естественным резервуаром *F. necrophorum*, а основным источником инфекции являются бактерионосители, выделяющие возбудитель со жвачкой и фекалиями. Экологические стресс-факторы, включая травматизм конечностей и неблагоприятные пастбища, играют ключевую роль в возникновении массовых вспышек [11].

Эффективное управление эпизоотической ситуацией требует глубокого изучения биологических свойств возбудителей с использованием современных методов генетики, молекулярной биологии и генной инженерии для анализа штаммов, эволюционных изменений и путей миграции [12]. В Якутии значительный вклад в борьбу с сибирской язвой внес С.А. Грюнер, организовавший в 1908 году первую ветеринарно-бактериологическую лабораторию и внедривший вакцинацию, что позволило временно прервать эпизоотии в 1911–1912 годах. Однако ослабление профилактических мер в последующие годы привело к новым вспышкам, подчеркивая необходимость комплексного подхода, включающего вакцинацию, обеззараживание почвенных очагов и мониторинг неблагополучных пунктов. Целью настоящего исследования является анализ эпизоотической ситуации по сибирской язве и некробактериозу в Республике Саха (Якутия), районирование территории по степени риска и разработка рекомендаций для минимизации экономических и эпидемиологических последствий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводилось на основе данных ветеринарного мониторинга в Республике Саха (Якутия) за период с 1890 по 2014 годы. Анализировались архивные записи о вспышках сибирской язвы и некробактериоза, включая количество заболевших и павших животных, а также географическое распределение стационарно неблагополучных пунктов. Эпизоотологический анализ включал оценку природно-климатических условий, численности поголовья домашних и диких оленей, а также экологических факторов, влияющих на циркуляцию возбудителей. Для районирования территории республики выделено шесть природных зон: приморско-тундровая, лесотундровая, горно-складчатая, таежная, центрально-якутская и южная. Вакцинация против сибирской язвы и некробактериоза проводилась с использованием стандартных и инактивированных вакцин, разработанных Всероссийским институтом экспериментальной ветеринарии (ВИЭВ).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Сибирская язва остаётся одной из наиболее значимых зооантропонозных инфекций на территории Крайнего Севера, что обусловлено наличием большого количества стационарно неблагополучных пунктов и широкой восприимчивостью местных видов животных. Инфекция поражает как домашних, так и диких копытных (крупный рогатый скот, лошадей, северных оленей, коз, свиней, лосей, косуль), а также хищников (медведей, собак, волков, соболей, лисиц). Наибольшая заболеваемость исторически регистрировалась среди северных оленей. Особенно масштабные эпизоотии наблюдались в начале XX века. Аналогичная ситуация отмечалась и в других северных регионах: в Ямало-Ненецком автономном округе было зарегистрировано 66 эпизоотий с гибелью более 1 млн голов, в том числе только в 1911 году на полуострове Ямал пало 100 тыс. оленей. На Таймыре с 1904 по 1977 годы зафиксировано 39 очагов. Однако в рамках нашего исследования основное внимание уделяется ситуации именно в Республике Саха (Якутия), где проблема сохраняет свою актуальность и в настоящее время.

Пренебрежение профилактическими мероприятиями, в частности необосно-

ванный отказ от вакцинации, в ряде случаев приводил к вспышкам заболевания даже после 1940-х годов. Ярким примером служит эпизоотия 1969 года в совхозе «Оленекский», где были зафиксированы вспышки заболевания, приведшие к значительным потерям поголовья. Прекращение эпизоотий достигалось либо вакцинацией, либо резким похолоданием, прекращающим активность кровососущих насекомых — предполагаемых механических переносчиков возбудителя. Последняя зарегистрированная вспышка среди оленей в Якутии произошла в 1993 году, что подтверждает сохраняющееся неблагополучие по данному заболеванию. Особую эпизоотологическую опасность представляет вовлечение в циркуляцию возбудителя диких оленей и других животных, среди которых невозможно организовать эффективные меры профилактики. Циркуляция возбудителя среди свободноживущей фауны и поддержание почвенных очагов, особенно в условиях, благоприятных для длительного выживания и перехода возбудителя к вегетативной форме, способствует эндемичности. Нередко в таких очагах находят трупы погибших от сибирской язвы животных, как показали результаты обследования 1970 года, в ходе которого были обнаружены останки диких копытных и хищников вдоль реки Муна в Жиганском районе, а также 73 трупа диких оленей, 11 лосей, 3 медведей и 1 табунной лошади в ряде районов республики и Красноярского края.

Наиболее проблемной остаётся идентификация и учёт почвенных очагов, формирующихся в результате гибели диких животных. Значительную эпизоотологическую роль играют и неучтённые захоронения погибших домашних животных. По данным государственной регистрации, на территории Якутии насчитывается 388 неблагополучных пунктов по сибирской язве. При этом, как показывает анализ состояния сибиреязвенных захоронений (Таблица 1), из 285 зарегистрированных объектов захоронений точное местоположение известно только для 75. Среди наиболее поражённых улусов выделяются: Усть-Алданский (38 захоронений), Мирнинский (36), Вилюйский (26), Среднеколымский (25), Оленёкский (15), Нюрбинский (14), Оймяконский (10) и Кобяйский (10).

Параллельно с проблемой сибирской язвы, значительный ущерб оленеводству наносят вспышки некробактериоза - другого опасного инфекционного заболевания, имеющего сходные пути передачи и сезонность проявления. Заболевание регистрируется ежегодно во всех арктических улусах, с пиком заболеваемости в июле–августе, совпадающим с повышенной активностью кровососущих насекомых. За последние пять лет зарегистрировано 48 138 заболевших оленей в 45 неблагополучных пунктах 12 улусов, с летальностью 19,8%. Болезнь имеет выраженную сезонность, высокую контагиозность и постоянство. Возникновение и развитие эпизоотий во многом обусловлены стресс-факторами: зимним голоданием, нарушением режима выпаса и теплового баланса. Эпизоотическая ситуация по данным заболеваниям во многом отражает особенности природных зон Якутии. В приморско-тундровой зоне (Аллаиховский, Анабарский, Булунский и др.) за последние 60 лет случаи сибирской язвы не регистрировались, однако ежегодно вакцинируется до 65 тыс. голов. Некробактериоз здесь поражает 1–1,5 тыс. оленей в год. В лесотундровой зоне (Абыйский, Жиганский, Оленёкский и др.) Жиганский и Оленёкский улусы остаются неблагополучными по сибирской язве, где каждые 10–12 лет регистрируются новые вспышки; вакцинация охватывает 15–17 тыс. голов ежегодно. Здесь некробактериоз достигает 3 тыс. случаев в год с летальностью до 30%.

В условиях горно-складчатой зоны (Оймяконский, Момский, Томпонский и др.) ежегодно вакцинируется до 35 тыс. голов. С 1997 года здесь проводятся испытания вакцин, включая ассоциированные препараты против сибирской язвы и некробактериоза, которые показали высокую эффективность и безопасность. В

таёжной зоне (Алданский, Вилюйский, Горный и др.) ежегодно прививается до 23 тыс. оленей, и в районах, где ранее регистрировался некробактериоз, после начала вакцинации в 1996 году заболевание исчезло. Таким образом, эпизоотическая ситуация по сибирской язве и некробактериозу северных оленей в Якутии носит устойчивый, эндемичный характер, что связано с природно-климатическими условиями, особенностями экологии и эпидемиологии возбудителей, а также факторами передачи. С учётом значительных социально-экономических последствий данных инфекций необходима постоянная и своевременная вакцинация, эпизоотологический мониторинг и комплексная профилактическая работа на всех уровнях оленеводства.

Таблица 1 – Состояние сибиреязвенных захоронений в Республике Саха (Якутия) на 01.01.2014

Улус	Общее количество захоронений	Точное местонахождение известно	Соответствуют требованиям	Частично соответствуют	Не соответствуют	Угроза подтопления
Усть-Алданский	38	10	0	8	2	0
Мирнинский	36	12	0	10	2	0
Вилюйский	26	8	0	5	3	4
Средне-Колымский	25	7	0	4	3	5
Оленекский	15	5	0	4	1	1
Нюрбинский	14	5	0	4	1	0
Олекминский	12	4	0	3	1	0
Хангаласский	12	4	0	3	1	0
Верхне-Вилюйский	11	3	0	2	1	0
Кобяйский	10	3	0	2	1	0
Намский	10	3	0	2	1	0
Оймяконский	10	3	0	2	1	0
Горный	9	3	0	2	1	0
Якутский	9	3	0	2	1	2
Жиганский	6	2	0	1	1	0
Сунтарский	5	2	0	1	1	0
Таттинский	4	1	0	1	0	0
Мегино-Кангский	3	1	0	1	0	0
Чурапчинский	3	1	0	1	0	0
Момский	2	1	0	1	0	0
Томпонский	2	1	0	1	0	0
Усть-Майский	2	1	0	1	0	0
Аллаиховский	1	0	0	0	0	0
Эвено-Бытантайский	1	0	0	0	0	0
Итого	**285**	**75**	**2**	**43**	**54**	**12**

Одним из ключевых направлений обеспечения эпизоотического благополучия является эффективное управление сибиреязвенными очагами, включая инвентаризацию и санитарный контроль мест захоронения трупов павших животных. Исторически вспышки сибирской язвы на территории Республики Саха (Якутия) регистрируются с конца XIX века. До 1950-х годов утилизация трупов, как правило, осуществлялась посредством сжигания на месте падежа с последующим захоронением продуктов горения без соблюдения строгих санитарных норм. Только с конца 1960-х годов были внедрены методы обеззараживания хлорсодержащими веществами и захоронения в ямы глубиной до 1 метра. К 1990-м годам начались масштабные мероприятия по ликвидации последствий эпизоотий с участием специализированных ветеринарных бригад, авиационной и вездеходной техники. Однако значительное число мест захоронений осталось неучтённым в связи с их засекречиванием в советский период и отсутствием архивных данных. Из 285 зарегистрированных сибиреязвенных захоронений (по состоянию на 1 января 2014 года) точное местоположение известно только для 75 объектов. Оставшиеся 208 мест остаются неидентифицированными из-за географической труднодоступности и отсутствия инфраструктуры. По данным обследований, лишь 2 захоронения соответствуют ветеринарно-санитарным требованиям, 54 нарушают их, включая отсутствие ограждений, обозначений и защитных траншей. Угроза подтопления в паводковый период установлена для 12 объектов, преимущественно в поймах рек Вилюй, Алазея и Лена. Ряд объектов расположен в водоохранных зонах без надлежащих мер защиты.

Исторически наиболее крупные эпизоотии сибирской язвы отмечались в 1969, 1970, 1980, 1986 и 1993 годах, преимущественно в Оленёкском, Мирнинском, Вилюйском и Жиганском районах. Так, в 1969 году в бассейне рек Селигир и Россоха погибло 892 северных оленя. В 1980 году в Жиганском районе заболели 918 оленей, из них 345 пали. Последняя крупная вспышка сибирской язвы была зафиксирована в 1993 году в Мирнинском районе: лабораторно подтверждено 28 случаев, найдено 52 трупа животных, включая как домашних, так и диких оленей, лосей, медведей, косуль, собак и лошадей. Устойчивость инфекции поддерживается природной очаговостью, высокой численностью восприимчивых видов, слабым иммунитетом у животных после зимовки, а также недостаточным охватом вакцинацией в удалённых стадах. Неучтённые и необустроенные захоронения диких и домашних животных создают постоянную эпизоотическую угрозу, в том числе за счёт инфицирования почвы. Возбудитель подтверждён в патматериалах, отобранных в различных районах, что свидетельствует о стабильной циркуляции Bacillus anthracis в природных и антропогенных биотопах.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Ретроспективный анализ эпизоотических данных с 1890 по 2014 гг. позволил выделить четыре зоны эпизоотического риска:

1.Зона высокого неблагополучия: Мирнинский, Вилюйский, Нюрбинский, Среднеколымский, Оленекский, Усть-Алданский районы (15–25 эпизоотий).

2.Зона среднего неблагополучия: Оймяконский, Кобяйский, Горный, Амгинский, Намский, Хангаласский, Якутский, Олекминский районы (10–18 эпизоотий).

3.Зона низкой инцидентности: Жиганский, Сунтарский, Эвено-Бытантайский, Томпонский, Алданский, Мегино-Кангаласский, Таттинский, Чурапчинский, Аллаиховский районы (1–5 эпизоотий).

4.Зона свободная от сибирской язвы: Анабарский, Абыйский, Булунский, Верхоянский, Нижнеколымский, Усть-Янский, Нерюнгринский и Ленский районы.

Таким образом, наличие сибиреязвенных захоронений, природная очаговость и антропогенные факторы создают длительно сохраняющуюся угрозу эпизоотий. Для предотвращения повторных

вспышек необходимо проведение системной инвентаризации захоронений, организация их санитарного контроля, тотальная вакцинация восприимчивых животных, а также охват профилактическими мероприятиями населения, вовлечённого в оленеводство и животноводство. Данные меры должны быть обеспечены на межведомственном уровне с опорой на научный мониторинг и современные технологии эпизоотического картографирования.

THE EPIZOOTIC SITUATION OF AANTHRAX AND NECROBACILLOSIS IN REINDEER IN THE REPUBLIC OF SAKHA (YAKUTIA)

Vinokurov I.E.[1] – Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher, Horse Selection and Breeding Laboratory; **Sleptsov E.S.** [1]* – Doctor of Veterinary Sciences, Chief Researcher, Reindeer Herding and Traditional Industries Laboratory; **Koryakina L.P.**[2] – Candidate of Veterinary Sciences, Assoc. Prof., Head of the Department of Physiology of Agricultural Animals and Ecology; **Savvinova M.S.**[2] – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Department of Veterinary-Sanitary Expertise and Hygiene; **Alferov I.V.** [1] – Candidate of Agricultural Sciences, Senior Researcher, Horse Selection and Breeding Laboratory

[1] Yakut Scientific Research Institute of Agriculture

[2] Arctic State Agrotechnological University

ABSTRACT

This study presents a comprehensive analysis of the epizootic situation concerning anthrax and necrobacillosis in the Republic of Sakha (Yakutia) over an extended period from 1890 to 2014. The research incorporates data from long-term veterinary monitoring, archival materials, and field studies, encompassing disease dynamics, geographical distribution, and factors influencing the circulation of these dangerous pathogens. The results demonstrate the persistent endemicity of anthrax in the region, particularly among reindeer populations. During the study period, major disease outbreaks were recorded, with the most significant occurring in 1969, 1980, and 1993. Of particular epidemiological concern are unaccounted animal burial sites - of 285 registered anthrax burial grounds, only 75 have precisely identified locations. Spatial distribution analysis reveals distinct zonal patterns of epizootic activity, with highest risk in forest-tundra and mountainous areas. Parallel investigation of necrobacillosis epidemiology shows this disease causes substantial economic losses to reindeer husbandry. Over the last five years of observation, 48,138 cases were recorded with a 19.8% mortality rate. A clear seasonal pattern was established, with peak incidence in July-August correlating with activity periods of blood-sucking insects as potential disease vectors. The study demonstrates that systematic vaccination using modern preparations significantly reduces disease incidence. However, challenges persist regarding hard-to-reach areas and insufficient vaccination coverage of wild animal populations. These findings have important practical implications for developing science-based control measures against zoonotic infections in Arctic regions.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Бессарабов Б.Ф., Вашутин А.А., Воронин Е.С. и др. Инфекционные болезни животных / Под ред. А. А. Сидорчука. — М.: Колос С, 2007. — 671 с.

2. Бакулов И.А., Гаврилов В.А. Оценка эффективности 10-летнего применения вакцины против сибирской язвы животных из штамма "55-ВНИИВВиМ" // Ветеринария. 1994. 8. С. 11-15.

3. Самуйленко А.Я., Соловьев Б.В., Непоклонов Е.А. Инфекционная патология животных: [в 2 т.]. // Москва. - 2006. - 807 с.

4. Винокуров И.Н., Мандаров А.Е., Алексеев Е.Д. Современное состояние и перспективы развития домашнего оленеводства Республики Саха (Якутия) // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2011. – № 10 – С. 144-146

5. Ипатенко Н.Г., Татаринцев Н.Т., Маничев А.А. и др. История создания отече-

ственных и зарубежных противосибиреязвенных вакцин // Ветеринария. 1989.– 3. – С. 71-72.
6. Бакулов И.А., Селиверстов В.В., Ведерников В.А., Гаврилов В. А. Сибирская язва: новые данные по эпизоотологии, диагностике и профилактике болезни. 1996. – 40с.
7. Alexander D.S., Garsia M.M., McKay K.A. / Assesment of various adjuvants in Sphaerophorus necrophorus toxoides / Canad. Vet. J. 1973, v.14, No. 10, p.247-251;
8. Ainsworth P.C. et al. Outer membrane proteins of Fusobacterium necrophorum biovars A, AB and B: their taxonomic relationship to Fusobacterium necrophorum subspecies necrophorum and Fusobacterium necrophorum subspecies fundiliforme // J. Vet. Diagn. Invest. -1993.- V. 5.- № 22.- P.282-283.
9. Лайшев А.Х., Афанасьев В.П., Силков А.М. и др. Лечение и профилактика некробактериоза северных оленей // Сибирский вестник с.-х. науки. 1988. - № 2. - С. 74-79.
10. Поляков В.А. Влияние внешней среды на заболеваемость северных оленей некробактериозом // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 1985. С.66-71.
11. Джупина С.И. Причины заболеваемости и профилактика некробактериоза животных. / С.И.Джупина // Ветеринария. 2005. -№7. С.7-10.
12. Винокуров И.Н., Мандаров А.Е., Алексеев Е.Д. Современное состояние и перспективы развития домашнего оленеводства Республики Саха (Якутия) // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2011. – № 10 – С. 144-146

REFERENCES

1. Bessarabov B.F., Vashutin A.A., Voronin E.S. i dr. Infekcionnye bolezni zhivotnyh / Pod red. A. A. Sidorchuka. — M.: Kolos S, 2007. — 671 s.
2. Bakulov I.A., Gavrilov V.A. Ocenka effektivnosti 10-letnego primeneniya vakciny protiv sibirskoj yazvy zhivotnyh iz shtamma \"55-VNIIVViM\" // Veterinariya. 1994. 8. S. 11-15.
3. Samujlenko A.Ya., Solov'ev B.V., Nepoklonov E.A. Infekcionnaya patologiya zhivotnyh: [v 2 t.]. // Moskva. - 2006. - 807 s.
4. Vinokurov I.N., Mandarov A.E., Alekseev E.D. Sovremennoe sostoyanie i perspektivy razvitiya domashnego olenevodstva Respubliki Saha (Yakutiya) // Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij. – 2011. – № 10 – S. 144-146
5. Ipatenko N.G., Tatarincev N.T., Manichev A.A. i dr. Istoriya sozdaniya otechestvennyh i zarubezhnyh protivosibireyazvennyh vakcin.// Veterinariya. 1989.3. S. 71-72.
6. Bakulov I.A., Seliverstov V.V., Vedernikov V.A., Gavrilov V.A Sibirskaya yazva: novye dannye po epizootologii, diagnostike i profilaktike bolezni. 1996. 40s.
9. Lajshev A.H., Afanas'ev V.P., Silkov A.M. i dr. Lechenie i profilaktika nekrobakterioza severnyh olenej // Sibirskij vestnik s.-h. nauki. 1988. - № 2. - S. 74-79.
10. Polyakov V.A. Vliyanie vneshnej sredy na zabolevaemost' severnyh olenej nekrobakteriozom // Sibirskij vestnik sel'skohozyajstvennoj nauki. 1985. S.66-71.
11. Dzhupina S.I. Prichiny zabolevaemosti i profilaktika nekrobakterioza zhivotnyh. / S.I.Dzhupina // Veterinariya . 2005. -№7. S.7-10.
12. Vinokurov I.N., Mandarov A.E., Alekseev E.D. Sovremennoe sostoyanie i perspektivy razvitiya domashnego olenevodstva Respubliki Saha (Yakutiya) // Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij. – 2011. – № 10 – S. 144-146.

УДК: 579.64
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.47

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КИШЕЧНОГО МИКРОБИОМА ЧИРА (*COREGONUS NASUS*)

Воронов К.Е.[1*] – инженер лаборатории генетики; **Лукина Ю.Н.**[2] – д-р биол. наук, директор института; **Апаликова О.В.**[1] – канд. биол. наук, зав. лабораторией генетики

[1] Санкт- Петербургский филиал ГНЦ РФ ФГБНУ «ВНИРО» («ГосНИОРХ» им. Л. С. Берга»)
[2] Институт водных проблем Севера КарНЦ РАН (ФГБУН «ИВПС ФИЦ КарНЦ РАН»)

*stek486@yandex.ru

Ключевые слова: *кишечная микробиота, филогенетические деревья, сиговые рыбы, секвенирование, OTE.*
Key words: *gut microbiota, phylogenetic trees, whitefish, sequencing, OTU.*

Поступила: 01.07.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Кишечная микробиота позвоночных животных представляет собой сложную биологическую систему, играющую ключевую роль в метаболизме и формировании иммунной защиты. Микробные сообщества осуществляют разложение сложных органических соединений, синтезируют витамины и обеспечивают стабильность внутренней среды организма, тесно взаимодействуя с его физиологическими процессами. Таким образом микробиота кишечника непосредственное влияет на здоровье организма хозяина. Изучение эволюционных связей в составе кишечной микробиоты чира (*Coregonus nasus*) посредством ампликонного секвенирования гена 16S рРНК способствует пониманию их трофических и конкурентных взаимодействий в организме хозяина. В рамках исследования были использованы следующие методы: NGS-секвенирование гена 16S рРНК по участкам V3-V4 и V4-V5 на платформе Illumina MiSeq в режиме PE, а также обработка полученных данных с помощью программного обеспечения Trimmomatic v0.39, VSEARCH v2.21.1, MAFFT v7.505, FastTree v2.1.11. Все анализы выполнялись на платформе Python 3.10.6 с использованием пакетов scipy, statsmodels, biopython. Полученные филогенетические деревья демонстрируют высокий уровень таксономической дифференциации, отражая как недавние эволюционные расхождения (характеризующиеся короткими ветвями и высокой поддержкой узлов), так и древние дивергенции, подтверждаемые значительной длиной ветвей в определенных кладах. Подобная организация указывает на множественные радиации внутри бактериальных таксонов, обусловленные адаптацией к различным экологическим нишам, что свидетельствует о сложности и взаимосвязанности микробных сообществ в исследуемых образцах. Высокое филогенетическое разнообразие обнаруженных таксонов, включая присутствие OTE, классифицированных как *Candidatus* или относящихся к

малоизученным группам, подчеркивает недостаточную изученность микробиоты пресноводных рыб в существующих базах данных.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Кишечный микробиом играет важнейшую роль в поддержании здоровья рыб, обеспечивая их нормальное функционирование и устойчивость к различным стрессовым факторам. Микроорганизмы, населяющие пищеварительный тракт рыб, участвуют в процессе переваривания пищи, синтезе необходимых витаминов и аминокислот, а также в защите от патогенных бактерий. Сбалансированный состав кишечной микробиоты напрямую влияет на рост, развитие и иммунный ответ рыб, что особенно важно в условиях аквакультуры [6, 7].

Нарушение микробиома может привести к серьезным последствиям для здоровья рыб. Дисбаланс кишечной микробиоты часто возникает при изменении условий содержания, некачественном кормлении или стрессе. Это может проявляться в снижении иммунитета, замедлении роста, ухудшении усвоения питательных веществ и повышенной восприимчивости к заболеваниям [13, 17].

Для пресноводных видов характерен более широкий спектр бактериальных групп, включая *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, а также представителей семейств Enterobacteriaceae и облигатных анаэробов – *Fusobacterium*, *Clostridium* и *Bacteroides* [7]. Однако, несмотря на наличие генетических данных о микробиоме многих промысловых рыб, экологическая значимость его отдельных составляющих остается малоизученной [10, 11].

Операционные таксономические единицы (ОТЕ) являются фундаментальным инструментом в современной микробиологии и метагеномике, позволяющие классифицировать и сравнивать микробные сообщества. Филогенетический анализ ОТЕ позволяет проследить эволюционные связи между различными микроорганизмами, выявить их родственные отношения и понять механизмы дивергенции. Данные о филогенетических деревьях могут иметь важное практическое значение для развития рыбоводческой отрасли и защиты биологического разнообразия. Понимание механизмов эволюции кишечной микробиоты рыб открывает возможности для изучения их адаптационных реакций на экологические изменения и создания научно обоснованных методов укрепления здоровья водных биологических ресурсов.

Чир (*Coregonus nasus*), является пресноводной рыбой из рода сиги (*Coregonus*), которая обитает в реках и озерах в северной части Евразии. Этот вид играет значительную роль в промысле и экологии, являясь частью пищевых цепей и объектом рыболовства и разведения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Образцы кишечного содержимого отбирались у чира, содержащегося в рыбоводном хозяйстве, расположенном на оз. Суходольское Ленинградской области в сентябре 2022 г. Общее количество исследованных особей – 21 экземпляр. Все образцы были собраны в стерильные пробирки с ТЕ-буфером и транспортировались при +4 °С в течении одного часа.

Тотальная микробная ДНК была извлечена из 200 мг биопробы кишечника с использованием фенол-хлороформного метода с добавлением изоамилового спирта в соотношении 25:24:1. Качество и концентрация выделенной ДНК оценивались с использованием спектрофотометрии NanoDrop (Thermo Scientific, США) и флуориметрии Qubit (Invitrogen, США). Также проводился контроль на предмет деградации тотальной ДНК методом электрофореза в 1% агарозном геле.

Для амплификации вариабельных регионов гена 16S рРНК использовались праймеры [18]:

Tru16S_V3V4F (341F):

CTACACGACGCTCTTCCGATCT CCTACGGGNGGCWGCAG,

Tru16S_V3V4R (785R):

CAGACGTGTGCTCTTCCGATCT

GACTACHVGGGTATCTAATCC,

Tru16S_V4V5F (515F):

CTACACGACGCTCTTCCGATCT GTGYCAGCMGCCGCGGTAA,

Tru16S_V4V5R (926R):

CAGACGTGTGCTCTTCCGATCT CCGYCAATTYMTTTRAGTTT.

Очистка ампликонов проводилась с использованием магнитных частиц AMPure XP (Beckman Coulter). Индексирование и подготовка библиотек для секвенирования выполнялись по протоколу Illumina 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation Guide. Качество библиотек проверялось на Bioanalyzer (Agilent Technologies) [16].

Библиотеки были секвенированы на платформе Illumina MiSeq в режиме PE.

Для первичной обработки парноконцевых прочтений применялась программа Trimmomatic PE [2]. В ходе обработки были удалены адаптеры Illumina, концевые нуклеотиды с низким качеством, осуществлена фильтрация качества посредством скользящего окна и удалены прочтения, чья длина была менее 150 п.н. Оценка качества производилась с использованием шкалы Phred+33 [1].

Уникальные последовательности были обработаны с использованием программного обеспечения VSEARCH. На первом этапе была выполнена дерепликация для обнаружения уникальных последовательностей (--derep_fulllength), при этом последовательности, представленные менее двух раз (--minuniquesize 2), были удалены. Затем был осуществлен поиск и удаление химерных последовательностей в два этапа: сначала *de novo* с использованием алгоритма UCHIME3 (--uchime3_denovo) [4], а затем с использованием референсной базы (--uchime_ref) с использованием базы данных "Gold".

После удаления химер, специфические последовательности сгруппировали в операционные таксономические единицы (OTE). Кластеризация выполнялась в VSEARCH с применением алгоритма, основанного на размере (--cluster_size), при уровне сходства 97% (--id 0.97).

Риды были сопоставлены с репрезентативными OTE-последовательностями. Файл с результатами в формате UC послужил основой для создания матрицы встречаемости OTE. Для установления таксономической классификации каждой последовательности OTE применялся алгоритм SINTAX, реализованный в программе VSEARCH (--sintax) [3]. В качестве эталонной базы данных использовалась база SILVA (версия 138).

Из итоговой таблицы были исключены OTE, не получившие таксономического определения (“Unassigned”), а также те, чья классификация не соответствовала установленному порогу достоверности (0,6).

Для оценки филогенетических взаимоотношений между полученными OTE, репрезентативные последовательности OTE были выровнены с помощью MAFFT v7.505 с автоматическим выбором стратегии выравнивания с автоматическим выбором стратегии (--auto) [8, 19]. Филогенетические деревья были построены методом максимального правдоподобия (ML) в FastTree v2.1.11 с использованием модели GTR+CAT [19].

Использованные версии программ

Программное обеспечение: Trimmomatic v0.39, VSEARCH v2.21.1, MAFFT v7.505, FastTree v2.1.11.

Все анализы выполнялись на платформе Python 3.10.6 с использованием пакетов scipy, statsmodels, biopython.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Секвенирование амплифицированных регионов 16S рРНК гена позволило получить 75 072 (V3-V4) и 27 382 (V4-V5) качественных прочтений. Из-за недостаточного качества или отсутствия первичных данных, информация для трех образцов в области V4-V5 не была получена, поэтому дальнейшие исследования для данной области проводились на 18 образцах.

После очистки и аннотации данных для регионов V3-V4 и V4-V5 было выделено 88 и 25 операционных таксономических единиц (OTE) соответственно, которые были классифицированы при помощи алгоритма SINTAX.

На основании полученной таксономии была проведена фильтрация таблиц OTE для удаления последовательностей, принадлежащих к неквалифицированным таксонам ('Unassigned'). В результате фильтрации для дальнейшего анализа были оставлены 81 OTE для региона V3-V4 и 23 OTE для региона V4-V5.

Филогенетические деревья были реконструированы на основе репрезентативных последовательностей 81 OTE (V3-V4) и 23 OTE (V4-V5). Построенные деревья аннотировались на основе таксономической классификации и использовались для визуализации эволюционных связей между выявленными OTE.

Представленное на рисунке 1 филогенетическое дерево отражает филогенетические связи между таксонами, обнаруженными в исследуемых образцах, и демонстрирует высокую степень таксономического и экологического разнообразия. Дерево получено на основе алгоритмов кластеризации с учетом длины ветвей (эволюционных расстояний) и статистической поддержки узлов, что позволяет оценить надежность полученных группировок. Дублирующиеся позиции обозначают разные, но неидентифицированные штаммы одного вида.

На базовом уровне дерево делится на две крупные клады. Первая из них включает двух представителей таксона, обозначенного как *Simkaniaceae_uncultured*, объединенных узлом с максимальной поддержкой (1.000) и обладающих сравнительно короткими ветвями, что свидетельствует об их близком эволюционном родстве. Вторая основная клада характеризуется значительно более сложной структурой, включающей несколько подклад, каждая из которых объединяет таксоны, принадлежащие к различным бактериальным группам.

В рамках клады можно выделить следующие основные подразделения:

Клада *Gemellaceae* и связанные таксоны.

В данном подразделении таксоны рода *Gemellaceae_Gemella* объединены с представителями семейств *Streptococcaceae* и *Staphylococcaceae*. Обнаруженные здесь филогенетические линии, имеющие высокую статистическую поддержку (близкую к 1.000), указывают на тесное родство между морфологически и функционально схожими представителями данных таксонов. Дополнительно выявлена интеграция таксонов, относящихся к порядку *Peptostreptococcales-Tissierellales*, что указывают на возможные общие эволюционные траектории в анаэробных сообществах.

Клада представителей *Gammaproteobacteria* и смежных групп.

В этом кластере наблюдается объединение таксонов, характерных для таких родов, как *Stenotrophomonas*, *Acinetobacter*, *Pseudoalteromonas*, а также представителей *Escherichia-Shigella* и *Vibrio*. Разветвленная структура данной клады, включающая несколько амплифицированных OTE, отражает высокий уровень экогеографического разнообразия и множественность функциональных адаптаций, характерных для микроорганизмов, обитающих в водных и прилегающих экосистемах.

Клада, включающая таксоны семейств *Alcaligenaceae*, *Burkholderiaceae* и сопутствующих групп.

Разнообразный состав этой группы определяется наличием таксонов, принадлежащих к *Oxalobacteraceae* (например, *Undibacterium*, *Janthinobacterium*), а также представителей *Polynucleobacter*, *Dechloromonas* и родов из семей *Aquabacterium* и *Rhodoferax* (*Comamonadaceae*). Высокая статистическая поддержка узлов и значительные эволюционные расстояния свидетельствуют о древнем расхождении и функциональном разнообразии данных таксонов, что может быть связано с их участием в окислительных и редукционных процессах в различных средах [15].

Отдельные и редко встречающиеся таксоны.

Некоторые ветви дерева, такие как таксон *T34_T34*, демонстрируют значительные эволюционные расхождения, подтвержденные длинными ветвями, что

указывает на их вероятно ранее не охарактеризованные филогенетические линии или адаптацию. Кроме того, подразделение, обозначенное как *Clade III*, объединяет представителей *Sphingomonadaceae*, а также таксоны из *Rhizobiaceae*, *Beijerinckiaceae* и *Caulobacteraceae*, что характерно для микроорганизмов, ассоциированных с почвенными и водными экосистемами.

Клада *Spirosomaceae* и *Flavobacteriaceae*.

Данный раздел дерева, представленный разветвленной структурой, содержит таксоны *Spirosomaceae* (например, *Pseudarcicella*) вместе с разнообразными представителями *Flavobacteriaceae_Flavobacterium*. Обилие вложенных узлов с высокими значениями поддержки указывает на глубокое диверсификационное разделение внутри этих групп, что отражает их высокую экологическую пластичность и адаптивность.

Клада таксонов, ассоциированных с кишечным и поверхностным микробиомом.

В этой части дендрограммы объединены таксоны, характерные для микробиоты кишечника и кожных покровов, такие как представители *Prevotella*, *Lactobacillus*, а также роды, включающие представителей *Ruminococcaceae* и *Muribaculaceae*. Такие объединения подчеркивают возможные функциональные связи между микроорганизмами, участвующими в переработке сложных органических веществ и метаболизме углеводов [14].

Клада таксонов, характерных для поверхностных сообществ.

Здесь наблюдается группировка таксонов, связанных с кожной микробиотой – представителей *Cutibacterium*, *Mycobacterium*, *Corynebacterium* и других. Это говорит о наличии адаптивных стратегий, позволяющих микроорганизмам успешно колонизировать внешние среды хозяев, а также о вероятном участии этих таксонов в патогенных и комменсальных процессах.

Низкоизученные таксоны и OTE с обозначением «*Candidatus*».

Особое внимание заслуживают небольшие ветви, включающие таксоны с пометкой *Candidatus Nomurabacteria* и неопределенные OTE. Их положение в дереве может свидетельствовать о существовании ранее не охарактеризованных эволюционных линий, что требует дальнейшего исследования в контексте функциональной экологии и адаптивных механизмов.

Представленное на рисунке 2 филогенетическое дерево иллюстрирует эволюционные взаимоотношения между бактериальными таксонами, выявленными в исследуемой выборке, и демонстрирует высокую степень таксономического разнообразия с учетом эволюционных расстояний и статистической поддержки внутренних узлов. Дублирующиеся позиции обозначают разные, но неидентифицированные штаммы одного вида.

На базовом уровне дерево делится на несколько крупных клад, каждая из которых объединяет таксоны, характеризующиеся схожими морфологическими и функциональными особенностями. Эволюционные расстояния (отраженные в длине ветвей) варьируются от относительно коротких значений, свидетельствующих о недавнем родстве, до сравнительно длинных ветвей, указывающих на глубокие эволюционные расхождения.

В рамках клады можно выделить следующие основные подразделения:

Клада *Sphingomonadaceae* и *Beijerinckiaceae*.

В первом подразделении объединены таксоны *Sphingomonadaceae_Sphingomonas* и *Beijerinckiaceae_Bosea*, что указывает на относительно близкое эволюционное родство между представителями этих групп. Длина ветвей в этом кластере невелика, что соответствует сравнительно небольшим эволюционным изменениям.

Клада, включающая таксоны *Phycisphaeraceae*, *Chitinophagaceae*, *Weeksellaceae* и *Flavobacteriaceae*.

Рисунок 1 – Филогенетический анализ региона V3-V4 методом максимального правдоподобия

Второе подразделение характеризуется наличием таксона *Phycisphaeraceae_CL500-3*, который объединен с рядом потомков: сначала - таксон *Chitinophagaceae_Sediminibacterium*, далее - группировка, в которую входят представители *Weeksellaceae_Chryseobacterium* и, на завершающем уровне, два отдельных представителя *Flavobacteriaceae_Flavobacterium*. Здесь наблюдаются как умеренные, так и более выраженные эволюционные ветвления, отражающие исторические разделения между таксонами, ассоциированными преимущественно с водной и осадочной средой.

Клада с комплексной структурой, включающей несколько внутренних подразделений.

Третья крупная клада демонстрирует многоуровневую организацию:

А. Подразделение *Chitinibacteraceae* и смежных таксонов.

На начальных ветвях данного разделения объединены представители *Chitinibacteraceae_Iodobacter*, за которыми следует дальнейшая диверсификация: выделяются таксоны, принадлежащие к *Oxalobacteraceae* (в частности, *Undibacterium* и *Massilia*) и таксоны, представляющие *Rhodocyclaceae_Dechloromonas* в сочетании с представителями *Comamonadaceae* (*Rhodoferax* и *Aquabacterium*). Эти узлы поддерживаются достаточно высокими значениями, что говорит о древнем расхождении и функциональной специализации групп.

В. Подразделение, содержащее OTE и таксоны, связанные с *Vibrionaceae* и *Moraxellaceae*.

В данном сегменте выделяется OTE (обозначенный как OTU_V4V5_2), объединенный с таксонами *Vibrionaceae_Vibrio* и *Moraxellaceae_Moraxella*. Эволюционные расстояния и средняя поддержка узлов в этой ветви указывают на возможную адаптацию организмов к специализированным экологическим нишам, предположительно, связанным с водной средой.

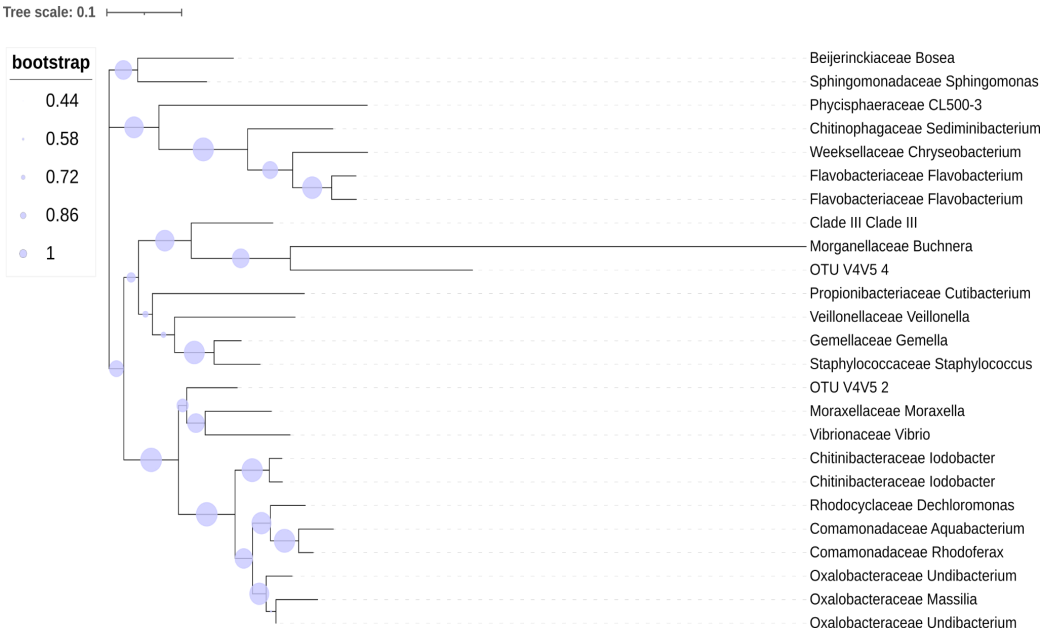


Рисунок 2 – Филогенетический анализ региона V4-V5 методом максимального правдоподобия

С. Подразделение *Clade III* и таксоны, ассоциированные с кожной и кишечной микробиотой.

Еще одно важное подразделение объединяет таксоны, обозначенные как *Clade_III_Clade_III*, где дополнительно выделяются OTE (например, OTU_V4V5_4) и таксоны из семейства *Morganellaceae* (*Buchnera*). Непосредственно с данной группой интегрировано объединение, состоящее из представителя *Propionibacteriaceae_Cutibacterium*, далее - таксоны *Veillonellaceae_Veillonella* и, наконец, группа, где таксоны *Staphylococcaceae_Staphylococcus* тесно связаны с представителями *Gemellaceae_Gemella*. Этот кластер подчеркивает особенности таксонов, ассоциированных с микробиотой кожных покровов и слизистых оболочек [12], а также их возможное участие в патогенных или комменсальных взаимодействиях.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Полученные филогенетические деревья демонстрируют высокую степень таксономической дифференциации, отражая как недавние эволюционные расхождения (обусловленные короткими ветвями и высокой поддержкой узлов), так и древние дивергенции, подтвержденные значительной длиной ветвей в некоторых кладах. Такая кластеризация свидетельствует о множественных радиациях внутри бактериальных таксонов, обусловленных адаптацией к различным экологическим нишам, что может указывать на сложность и взаимосвязанность микробных сообществ в анализируемых выборках.

Таким образом, филогенетический анализ позволил не только реконструировать эволюционные взаимоотношения между изучаемыми таксонами, но и выявить потенциально новые эволюционные линии, требующие дальнейшей геномной и функциональной характеристики.

Представители семейства *Enterobacteriaceae* обнаруженные при анализе региона V3-V4 согласуется с данными исследования метагеномов плотоядных рыб [9]. Что в свою очередь может косвенно свидетельствовать, о высоком содержании продуктов животного происхождения в используемых комбикормах для производителей.

Стоит заметить, что ни в одной кладе не было обнаружено представителей *Clostridium* и *Aeromonadaceae.* Данные микроорганизмы ассоциированы с расщеплением целлюлозы в кишечнике рыб [9]. Эта молекула присутствует, как растительный компонент, практически во всех комбикормах для рыб. В связи с этим, можно предположить, что корма усваиваются в недостаточной степени, что в свою очередь снижает прирост массы и повышает финансовые затраты на корма.

Высокое филогенетическое разнообразие обнаруженных таксонов, в том числе присутствие OTE, обозначенных как *Candidatus* или относящихся к малоизученным линиям, указывает на недостаточную представленность микробиоты пресноводных рыб в существующих базах данных. Это также подчеркивает потенциал дальнейшего метагеномного и метатранскриптомного анализа.

В кластере *Gammaproteobacteria* наблюдается разветвленная структура, включающая несколько OTE, что отражает высокий уровень экогеографического разнообразия и множественность функциональных адаптаций, характерных для микроорганизмов, обитающих в водных и прилегающих экосистемах.

Полученные данные о филогенетическом разнообразии и кластеризации таксонов имеют важное практическое значение для аквакультуры и сохранения биоразнообразия. Понимание эволюционных закономерностей формирования кишечной микробиоты позволяет прогнозировать реакцию рыб на изменения среды обитания и разрабатывать эффективные стратегии поддержания их здоровья.

PHYLOGENETIC STUDY OF THE GUT MICROBIOME OF BROAD WHITEFISH (*COREGONUS NASUS*)

Voronov K.E.[1*] – Genetics Lab Engineer (SPIN 7341-0679); **Lukina Yu.N.**[2] – Doctor of Biological Sciences, Institute Di-

rector (SPIN 3429-0446); **Apalikova O.V.**[1] – Candidate of Biological Sciences, Head of the Genetics Lab (SPIN 6660-4950)

[1] St. Petersburg branch of the State Scientific Center of the Russian Federation FGBNU "VNIRO" ("GosNIORH" named after L. S. Berg)

[2] Institute of Water Problems of the North KarRC RAS (FGBI "IVPS FRC KarRC RAS")

*stek486@yandex.ru

ABSTRACT

The intestinal microbiota of vertebrates is a complex biological system that plays a key role in metabolism and the formation of immune defense. Microbial communities decompose complex organic compounds, synthesize vitamins and ensure the stability of the internal environment of the body, closely interacting with its physiological processes. Thus, the intestinal microbiota directly affects the health of the host organism. The study of evolutionary relationships in the intestinal microbiota of broad whitefish (*Coregonus nasus*) by amplicon sequencing of the 16S rRNA gene contributes to an understanding of their trophic and competitive interactions in the host organism. The following methods were used in the study: NGS sequencing of the 16S rRNA gene in the V3-V4 and V4-V5 regions on the Illumina MiSeq platform in PE mode, as well as processing the obtained data using Trimmomatic v0.39, VSEARCH v2.21.1, MAFFT v7.505, FastTree v2.1.11 software. All analyses were performed on Python 3.10.6 using scipy, statsmodels, and biopython packages. The resulting phylogenetic trees demonstrate a high level of taxonomic differentiation, reflecting both recent evolutionary divergences (characterized by short branches and high node support) and ancient divergences supported by significant branch lengths in certain clades. Such organization indicates multiple radiations within bacterial taxa due to adaptation to different ecological niches, which indicates the complexity and interconnectedness of microbial communities in the studied samples. The high phylogenetic diversity of the detected taxa, including the presence of OTUs classified as *Candidatus* or belonging to poorly studied groups, highlights the insufficient study of the freshwater fish microbiota in existing databases.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Benjamini Y., Hochberg Y. 1995. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing // Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological). V. 57(1). P. 289–300. https://www.jstor.org/stable/2346101
2. Bolger A. M., Lohse M., Usadel B. 2014. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data // Bioinformatics. V. 30 (15). P. 2114–2120. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu170
3. Edgar R. C. 2016. SINTAX: a simple non-Bayesian taxonomy classifier for 16S and ITS sequences // bioRxiv. 074161. DOI: 10.1101/074161
4. Edgar R. C., Haas B. J., Clemente J. C., Quince C., Knight R. 2011. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection // Bioinformatics. V. 27(16). P. 2194–2200. DOI: 10.1093/bioinformatics/btr381
5. Egerton S., Culloty S., Whooley J., Stanton C., Ross R. P. 2018. The gut microbiota of marine fish // Frontiers in Microbiology. V. 9. P. 873. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00873
6. Ghanbari M., Kneifel W., Domig K. J. 2015. A new view of the fish gut microbiome: advances from next-generation sequencing // Aquaculture, V. 448. P. 464–475. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.06.033
7. Givens C. E., Ransom B., Bano N., Hollibaugh J. T. 2015. Comparison of gut microbiomes of 12 bony fish and 3 shark species // Marine Ecology Progress Series. V. 518. P. 209–223. DOI: 10.3354/meps11034
8. Katoh K., Standley D. M. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability // Molecular Biology and Evolution. V. 30(4). P. 772–780. DOI: 10.1093/molbev/mst010
9. Kim, P. S., Shin, N. R., Lee, J. B., Kim,

M. S., Whon, T. W., Hyun, D. W., Yun, J. H., Jung, M. J., Kim, J. Y., Bae, J. W. 2021. Host habitat is the major determinant of the gut microbiome of fish // Microbiome. V. 9 (1). P. 166. DOI: 10.1186/s40168-021-01113 -x
10. Li X., Yu Y., Feng W., Yan Q., Gong Y. 2012. Host species as a strong determinant of the intestinal microbiota of fish larvae // The Journal of Microbiology. V. 50(1). P. 29 –37. DOI: 10.1007/s12275-012-1340-1
11. Liu Y., Li Y., Li J., Zhou Q., Li X. 2022. Gut microbiome analyses of wild migratory freshwater fish (Megalobrama terminalis) through geographic isolation // Frontiers in Microbiology. V. 13. P. 858454. DOI: 10.3389/fmicb.2022.858454
12. Maji U. J., Mohanty S., Mahapatra A. S., Mondal H. K., Samanta M., Maiti N. K. 2022. Exploring the gut microbiota composition of Indian major carp, rohu (Labeo rohita), under diverse culture conditions // Genomics. V. 114(3), P. 110354. DOI: 10.1016/j.ygeno.2022.110354
13. McFall-Ngai M., Hadfield M.G., Bosch T.C.G., Carey H.V., Domazet-Lošo T., Douglas A.E., Wernegreen J.J. 2013. Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences // Proceedings of the National Academy of Sciences. V. 110(9). P. 3229–3236. DOI: 10.1073/pnas.1218525110
14. Sadeghi J., Chaganti S. R., Johnson T. B., Heath D. D. 2023. Host species and habitat shape fish-associated bacterial communities: phylosymbiosis between fish and their microbiome // Microbiome. V. 11(1). P. 39. DOI: 10.1186/s40168-023-01697-6
15. Suhr M., Fichtner-Grabowski F.T., Seibel H., Bang C. 2023. Effects of plant-based proteins and handling stress on intestinal mucus microbiota in rainbow trout // Scientific Reports. V. 13. Article 50071. DOI: 10.1038/s41598-023-50071-x
16. Tarnecki A. M., Burgos F. A., Ray C. L., Arias C. R. 2017. Fish intestinal microbiome: diversity and symbiosis unravelled by metagenomics // Journal of Applied Microbiology. V. 123(1). P. 2–17. DOI: 10.1111/ jam.13415
17. Tsuchiya C., Sakata T., Sugita H. 2008. Novel ecological niche of Cetobacterium somerae, an anaerobic bacterium in the intestinal tracts of freshwater fish // Letters in Applied Microbiology. V. 46(1). P. 43–48. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2007.02258.x
18. Wang A. R., Ran C., Ringø E., Zhou Z. G. 2018. Progress in fish gastrointestinal microbiota research // Reviews in Aquaculture. V. 10(3). P. 626–640. DOI: 10.1111/ raq.12191
19. Washburne A. D., Morton J. T., Sanders J., McDonald D., Zhu Q., Oliverio A. M., Knight R. 2018. Methods for phylogenetic analysis of microbiome data // Nature microbiology. V. 3(6). P. 652–661. DOI: 10.1038/ s41564-018-0156-0

REFERENCES

1. Benjamini Y., Hochberg Y. 1995. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing // Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological). V. 57(1). P. 289–300. https://www.jstor.org/stable/2346101
2. Bolger A. M., Lohse M., Usadel B. 2014. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data // Bioinformatics. V. 30 (15). P. 2114–2120. DOI: 10.1093/ bioinformatics/btu170
3. Edgar R. C. 2016. SINTAX: a simple non-Bayesian taxonomy classifier for 16S and ITS sequences // bioRxiv. 074161. DOI: 10.1101/074161
4. Edgar R. C., Haas B. J., Clemente J. C., Quince C., Knight R. 2011. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection // Bioinformatics. V. 27(16). P. 2194 –2200. DOI: 10.1093/bioinformatics/btr381
5. Egerton S., Culloty S., Whooley J., Stanton C., Ross R. P. 2018. The gut microbiota of marine fish // Frontiers in Microbiology. V. 9. P. 873. DOI: 10.3389/ fmicb.2018.00873
6. Ghanbari M., Kneifel W., Domig K. J. 2015. A new view of the fish gut microbiome: advances from next-generation sequencing // Aquaculture, V. 448. P. 464–475. DOI: 10.1016/ j.aquaculture.2015.06.033
7. Givens C. E., Ransom B., Bano N., Hollibaugh J. T. 2015. Comparison of gut microbiomes of 12 bony fish and 3 shark spe-

cies // Marine Ecology Progress Series. V. 518. P. 209–223. DOI: 10.3354/meps11034
8. Katoh K., Standley D. M. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability // Molecular Biology and Evolution. V. 30(4). P. 772–780. DOI: 10.1093/molbev/mst010
9. Kim, P. S., Shin, N. R., Lee, J. B., Kim, M. S., Whon, T. W., Hyun, D. W., Yun, J. H., Jung, M. J., Kim, J. Y., Bae, J. W. 2021. Host habitat is the major determinant of the gut microbiome of fish // Microbiome. V. 9 (1). P. 166. DOI: 10.1186/s40168-021-01113-x
10. Li X., Yu Y., Feng W., Yan Q., Gong Y. 2012. Host species as a strong determinant of the intestinal microbiota of fish larvae // The Journal of Microbiology. V. 50(1). P. 29–37. DOI: 10.1007/s12275-012-1340-1
11. Liu Y., Li Y., Li J., Zhou Q., Li X. 2022. Gut microbiome analyses of wild migratory freshwater fish (Megalobrama terminalis) through geographic isolation // Frontiers in Microbiology. V. 13. P. 858454. DOI: 10.3389/fmicb.2022.858454
12. Maji U. J., Mohanty S., Mahapatra A. S., Mondal H. K., Samanta M., Maiti N. K. 2022. Exploring the gut microbiota composition of Indian major carp, rohu (Labeo rohita), under diverse culture conditions // Genomics. V. 114(3), P. 110354. DOI: 10.1016/j.ygeno.2022.110354
13. McFall-Ngai M., Hadfield M.G., Bosch T.C.G., Carey H.V., Domazet-Lošo T., Douglas A.E., Wernegreen J.J. 2013. Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences // Proceedings of the National Academy of Sciences. V. 110(9). P. 3229–3236. DOI: 10.1073/pnas.1218525110
14. Sadeghi J., Chaganti S. R., Johnson T. B., Heath D. D. 2023. Host species and habitat shape fish-associated bacterial communities: phylosymbiosis between fish and their microbiome // Microbiome. V. 11(1). P. 39. DOI: 10.1186/s40168-023-01697-6
15. Suhr M., Fichtner-Grabowski F.T., Seibel H., Bang C. 2023. Effects of plant-based proteins and handling stress on intestinal mucus microbiota in rainbow trout // Scientific Reports. V. 13. Article 50071. DOI: 10.1038/s41598-023-50071-x
16. Tarnecki A. M., Burgos F. A., Ray C. L., Arias C. R. 2017. Fish intestinal microbiome: diversity and symbiosis unravelled by metagenomics // Journal of Applied Microbiology. V. 123(1). P. 2–17. DOI: 10.1111/jam.13415
17. Tsuchiya C., Sakata T., Sugita H. 2008. Novel ecological niche of Cetobacterium somerae, an anaerobic bacterium in the intestinal tracts of freshwater fish // Letters in Applied Microbiology. V. 46(1). P. 43–48. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2007.02258.x
18. Wang A. R., Ran C., Ringø E., Zhou Z. G. 2018. Progress in fish gastrointestinal microbiota research // Reviews in Aquaculture. V. 10(3). P. 626–640. DOI: 10.1111/raq.12191
19. Washburne A. D., Morton J. T., Sanders J., McDonald D., Zhu Q., Oliverio A. M., Knight R. 2018. Methods for phylogenetic analysis of microbiome data // Nature microbiology. V. 3(6). P. 652–661. DOI: 10.1038/s41564-018-0156-0

УДК: 57.083.331:616.98-07:578.826.1:636.59
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.58

РАЗРАБОТКА РЕАКЦИИ ЛАТЕКС-АГГЛЮТИНАЦИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОГО ЭНТЕРИТА ИНДЕЕК

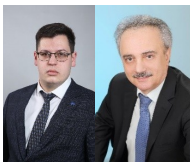
Красков Д.А.*[1,2] – асс., асп. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана, мл. науч. сотр. отдела вирусологии; **Джавадов Э.Д.[1,2].** – д-р ветеринар. наук, проф. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана, научный консультант; **Веретенников В.В. [1,2]** - канд. ветеринар. наук, ст. препод. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана, директор; **Тарлавин Н.В. [1,2]** - канд. ветеринар. наук, ст. препод. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана, зам. директора по науке; **Дубовой А.С.[2]** – ст. науч. сотр. отдела вирусологии; **Самусева Г.Н. [2]** – ст. науч. сотр.., отдела вирусологии

[1] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
[2] Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства – филиал ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства»

*- kraskov-00@bk.ru

Ключевые слова: вирус геморрагического энтерита индеек, реакция латекс-агглютинации, серологические реакции, лабораторная диагностика.
Keywords: turkey hemorrhagic enteritis virus, latex agglutination reaction, serological reactions, laboratory diagnostics.
Финансирование: *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-26-20116 «Разработка отечественных серологических тест-систем для диагностики иммунодепрессивных болезней птиц» и Санкт-Петербургского научного фонда.*

Поступила: 24.08.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025



РЕФЕРАТ
При стремительном темпе роста индейководческой промышленности и возникновением новых вирусных болезней, приходится сталкиваться с проблемой отсутствия в России диагностических наборов и способов специфической профилактики этих болезней. Наиболее часто встречающейся и экономически опасной иммунодепрессивной болезнью является геморрагический энтерит индеек (ГЭИ). Для диагностики вируса ГЭИ в России отсутствуют любые наборы, именно поэтому целью нашей работы являлась разработка серологического способа диагностики на примере реакции латекс-агглютинации. Было создано 4 группы с разницей в том, что были использованы различные буферные растворы для разведения и промывания латекса, различные виды латекса, их размер, а также от вида очистки глобулиновой фракции (1-й способ с помощью ПЭГ 6000, а второй с помощью осаждения глобулиновой фракции сульфатом аммония с последующим проведение диализа). После осаждения глобулиновой фракции на латексных микросферах по методике описанной в статье подвергались проверки следующим путём: на пластик наносил-

ся латексный диагностикум в объёме 50 мкл и к нему добавлялся супернатант гомогената селезёнки индеек зараженных вирусом ГЭИ, а также присоединялось 50 мкл латексного диагностикума с добавлением супернатанта гомогената селезёнки незараженных индеек. Перемешивали компоненты с помощью деревянного шпателя и ждали 10 минут для учета реакции. После учета реакции был сделан вывод, что наилучшей модификацией латекса является карбоксилированный с диаметром 200-400 нм, лучшим буфером является трис-HCl, а лучшим разведением глобулиновой фракции 1:2-1:16.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

При стремительном росте индейководческой промышленности в России, ветеринарная служба РФ и ветеринарные врачи птицефабрик сталкиваются с новыми болезнями птиц, которых раньше не было в нашей стране. Одной из таких болезней является геморрагический энтерит индеек.

Геморрагический энтерит индеек (ГЭИ) — это высококонтагиозная, иммунодепрессивная, инфекционная болезнь индеек, вызванная ДНК-содержащим вирусом из второй группы птичьих аденовирусов, семейства Adenoviridae, рода Siadenovirus клетками мишенями которого являются В-лимфоциты [7,10]. Данная болезнь характеризуется проявлением следующих клинических признаков: депрессия, диарея с примесью крови, обезвоживание, снижение температуры, и различными осложнениями спектр которых зависит от вида развивающегося бактериального патогена в птице [2,3,6,9]. Основными методами лабораторной диагностики ГЭИ являются серологические и молекулярно-биологические методы [4,5,8]. К сожалению, в России по нашим данным есть только один зарегистрированный серологический набор для выявления антител к вирусу ГЭИ (набор для проведения иммуноферментного анализа компании Вектор-Бест) и отсутствуют другие зарегистрированные способы и методы диагностики [1]. Однако, даже если использовать лабораторные способы диагностики, которые сейчас разработаны в РФ, но не зарегистрированы (для создания внутренний отчетности на птицефабрике, и для понимания статуса по ГЭИ ветеринарными специалистами), а именно реакция диффузионной преципитации (РДП) и полимеразная цепная реакция в классическом варианте (ПЦР), являются иногда проблематичными для специалистов ветеринарных лабораторий. Связано это, если говорить о ПЦР с необходимостью обучения специалистов и необходимостью дорогостоящего оборудования, а также с наличием больших рисков получить недостоверный результат при малейших ошибках во время выделения нуклеиновой кислоты и дальнейшим добавлением компонентов из ПЦР набора. Если же затронуть РДП, то таких недостатков там нет, однако возникает необходимость долго ждать результата реакции (48-72 часа). При постановке реакции латекс-агглютинации (РЛА) мы избегаем указанных недостатков. РЛА разработана нами на выявление вируса ГЭИ в органах мишенях [2]. Её преимуществом является легкое проведение самой реакции даже в «полевых» условиях, а также быстрый учет результата реакции (необходимо вытяжку из полученных органов-мишеней предполагаемой больной индейки, нанести на предметное стекло, на которое уже добавлен компонент из набора и уже через 5-10 минут по положительной и отрицательной агглютинации латексных частиц, можно будет сделать вывод о наличие вируса в организме). Недостатком РЛА является то, что она улавливает как патогенные, так и вакцинные штаммы вируса ГЭИ. Поэтому если применяется живая вакцина на птицефабрике, то данный метод будет неинформативен, так как будет давать положительный результат на вакцинный штамм. Однако если на птицефабрике применяется инактивированная вакцина, или вообще не применяется специфическая профилактика к ГЭИ, то РЛА можно использовать для диагностики.

Именно поэтому целью работы являлось создание РЛА на выявление вируса ГЭИ, который раньше не был разработан

и не был зарегистрирован в Российской Федерации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования были выполнены на базе Научно-консультационного диагностического центра по птицеводству кафедры эпизоотологии им. В.П. Урбана, ФГБОУ ВО СПБГУВМ и отдела вирусологии ВНИВИП. В данный комплекс исследований входил анализ и подбор латекса, который имеет наибольшую связывающую способность с антителами, для создания РЛА на выявление вируса ГЭИ. Именно поэтому было создано 4 группы наборов РЛА с различными видами и размерами латексных частиц, различными буферами для разведения и отмывки латексных частиц, а также с адсорбцией на латексе глобулиновой фракции, полученной различными способами.

Виды получения глобулиновой фракции:

1) Очистка глобулинов в сыворотке крови индеек (гипериммунизированные живой вакциной «Dindoral» против ГЭИ, титр в иммуноферментном анализе - 1:17815) с помощью полиэтиленгликоля 6000 (ПЭГ 6000). Флакон с сывороткой крови индеек объёмом 50 мл, поставленную на магнитную мешалку со скоростью 500 об/мин., капельно добавляли 40% раствор ПЭГ 6000, доводя его концентрацию в сыворотке крови до 13%. После этого ждали, когда ПЭГ 6000 полностью растворится в сыворотке крови и оставляли на сутки в холодильник. После полученную сыворотку крови с растворенным ПЭГ 6000 откручивали на центрифуге при 3000 об/мин в течение 30 минут. Полученный надосадок удаляли, и растворяли осадок в 10 мл физиологического раствора, тем самым получая концентрированную глобулиновую фракцию, которую в дальнейшем использовали для сорбции на латексных частицах.

2) Очистка глобулинов в сыворотке крови индеек с помощью сульфата аммония с последующим проведением диализа. Сначала был получен насыщенный раствор сульфата аммония, для этого в колбу с 200 мл дистилированной воды помещенной на магнитной мешалке со скоростью 400 об/мин мы поэтапно добавляли 150 грамм сульфата аммония, помешивание происходило в течение 3 часов. Раствор считается насыщенным при просветлении надосадочной жидкости и выпадение частиц сульфата аммония на дно колбы. Далее к флакону с 50 мл сыворотки крови индеек, помещенной на магнитной мешалке со скоростью 300 об/мин капельно добавляли насыщенный раствор сульфата аммония в соотношение 1:1. Далее полученный раствор оставляли на 1 час и откручивали на центрифуге при 3000 об/мин в течение 30 минут, полученный надосадок удаляли, а осадок растворили в 50 мл в фосфатно-солевом буфере (ФСБ). После этого добавляли насыщенный раствор сульфата аммония и проводили тот же самый процесс еще 2 раза. После 3-го откручивания осадок доводили до 50 мл ФСБ.

Было отобрано 10 мл осажденной глобулиновой фракции с сульфатом аммония, после чего подвергали диализу против физиологического раствора. Отобранные 10 мл вносили в диализный мешок М -Cel диаметр пор 14 kDa ширина 25 мм в жидком консерванте. Затем закрепленный диализный мешок помещали на 4/5 длины в стеклянную бутылку с 5 литрами физиологического раствора. Бутылка находилась на магнитной мешалке со скоростью вращения магнита 400 об/мин, для проведения равномерного диализа. Бутылку с физиологическим раствором меняли трижды с интервалом 24 часа. После третьей смены физиологического раствора через 24 часа, освобожденная от сульфата аммония глобулиновая фракция к вирусу геморрагического энтерита индеек была отобрана в пробирку.

Группы наборов РЛА:

1 группа, где для разведения и отмывания латексных микросфер использовался физиологический раствор (pH= 5,5)*:

1.1) Микросферы латексные 200 нм, COOH, 4%. К 2% латексным микросферам (разводили 4% латексные микросфе-

ры 1:1 с физиологическим раствором) добавляли очищенную глобулиновую фракцию полученную с помощью ПЭГ 6000 в соотношение 1:1, после чего выдерживали в термостате при температуре 37°С в течение 45 минут, после откручивали на центрифуги при скорости 3000 об/мин в течение 30 минут трижды с удалением надосадка и добавлением физиологического раствора после каждого центрифугирования. После последнего центрифугирования удаляли надосадок и добавляли в равном объёме физиологический раствор. Конечная концентрация латексного диагностикума составила 1%.

1.2) Микросферы латексные 400 нм, СООН, 4%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 1.1.

1.3) Микросферы латексные 200 нм, модифицированные стрепавидином 1%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 1.1, за исключением того, концентрация латексных микросфер изначально была 1%, и в конце мы получили латексный диагностикум в концентрации 0,5%.

1.4) Микросферы латексные 200 нм, СООН, 4%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 1.1. За исключением того, что использовали глобулиновую фракцию, полученную путем диализа после осаждения насыщенным раствором сульфатам аммония.

1.5) Микросферы латексные 400 нм, СООН, 4%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 1.4.

1.6) Микросферы латексные 200 нм, модифицированные стрепавидином 1%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в 1 пункте, но глобулиновую фракцию использовали как в пункте 1.4.

2 группа, где для разведения и отмывания латексных микросфер использовался ФСБ (pH=7,0)*:

2.1) Микросферы латексные 200 нм, СООН, 4%. К 2% латексным микросферам (разводили 4% латексные микросферы 1:1 с ФСБ) добавляли очищенную глобулиновую фракцию полученную с помощью ПЭГ 6000 в соотношение 1:1, после чего выдерживали в термостате при температуре 37°С в течение 45 минут, после откручивали на центрифуги при скорости 3000 об/мин в течение 30 минут трижды с удалением надосадка и добавлением ФСБ после каждого центрифугирования. После последнего центрифугирования удаляли надосадок и добавляли в равном объёме ФСБ. Конечная концентрация латексного диагностикума составила 1%.

2.2) Микросферы латексные 400 нм, СООН, 4%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в 2.1 пункте.

2.3) Микросферы латексные 200 нм, модифицированные стрепавидином 1%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 2.1, за исключением того, концентрация латексных микросфер изначально была 1%, и в конце мы получили латексный диагностикум в концентрации 0,5%.

2.4) Микросферы латексные 200 нм, СООН, 4%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 2.1. За исключением того, что использовали глобулиновую фракцию, полученную путем диализа после осаждения насыщенным раствором сульфатам аммония.

2.5) Микросферы латексные 400 нм, СООН, 4%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 2.4.

2.6) Микросферы латексные 200 нм, модифицированные стрепавидином 1%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 2.1, но глобулиновую фракцию использовали как в пункте 2.4.

3 группа, где для разведения и отмывания латексных микросфер использовался трис-HCl буфер (pH= 7,4)*:

3.1) Микросферы латексные 200 нм, СООН, 4%. К 2% латексным микросферам (разводили 4% латексные микросферы 1:1 с трис-HCl) добавляли очищенную глобулиновую фракцию, полученную с помощью ПЭГ 6000 в соотношение 1:1, после чего выдерживали в термостате при температуре 37°С в течение 45 минут, после откручивали на центрифуги при скорости 3000 об/мин в течение 30 минут трижды с удалением надосадка и добав-

лением трис-HCl после каждого центрифугирования. После последнего центрифугирования удаляли надосадок и добавляли в равном объёме трис-HCl. Конечная концентрация латексного диагностикума составила 1%.

3.2) Микросферы латексные 400 нм, COOH, 4%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в 3.1 пункте.

3.3) Микросферы латексные 200 нм, модифицированные стрепавидином 1%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 3.1, за исключением того, концентрация латексных микросфер изначально была 1%, и в конце мы получили латексный диагностикум в концентрации 0,5%.

3.4) Микросферы латексные 200 нм, COOH, 4%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 3.1. За исключением того, что использовали глобулиновую фракцию, полученную путем диализа после осаждения насыщенным раствором сульфатам аммония.

3.5) Микросферы латексные 400 нм, COOH, 4%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 3.4.

3.6) Микросферы латексные 200 нм, модифицированные стрепавидином 1%. Осаждение глобулинов происходило аналогично, как и в пункте 3.1, но глобулиновую фракцию использовали как в пункте 3.4.

4 группа отрицательная. Был использован нативный карбоксилированный и стрепавидиновый латекс без осаждения на них глобулиновой фракции.

**Во всех пунктах групп за исключением четвертой на латексные микросферы осаждали глобулиновую фракцию в различных разведениях: цельная фракция и разведения 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32.*

Все 4 группы РЛА наборов подвергались проверки следующим путём: на пластик наносился латексный диагностикум в объёме 50 мкл и к нему добавлялся супернатант гомогената селезёнки индеек зараженных вирусом ГЭИ (наличие вируса в супернатанте подтверждено в РДП, титр 1:32, положительный контроль), а также наносилось 50 мкл латексного диагностикума с добавлением супернатанта гомогената селезёнок незараженных индеек (отсутствие вируса подтверждено с помощью ПЦР, отрицательный контроль). Перемешивали компоненты с помощью деревянная шпателя и ждали 10 минут для учета реакции.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты проведенных исследований указаны в таблице № 1 и таблице№2.

Исходя из результатов, представленных в таблицах видно, что латексные микросферы модифицированные стрепавидином нельзя использовать для разработки РЛА, так как везде получен положительный результат независимо от выбранного буфера и типа очистки глобулиновой фракции. Также положительный результат получен с отрицательным контролем, что еще раз указывает нам то, что данные латексные микросферы не подходят. Возможно, такой результат был получен, потому что латекс модифицированный стрепавидином имеет слишком сильную адсорбирующую активность и не может корректно взаимодействовать с очищенными глобулиновыми фракциями.

Также при разработке нельзя использовать в качестве буфера – физиологический раствор и фосфатно-солевой буфер, так как готовые латексные микросферы, которые были получены с использование физиологического раствора и ФСБ дают спонтанную агглютинацию (ложноположительную реакцию) с положительным и отрицательным контролем (Рис. 1). Скорее всего данный результат связан с неподходящим pH и ионной силой.

Также было обнаружено что в данном случае нет разницы между диаметрами латексных частиц 200 и 400 нм. Результаты между 200 и 400 нм были одинаковыми.

Наилучший результат показал карбоксилированный латекс с диаметром сфер 200 и 400 нм с использованием трис-HCl буфера, а наилучшим титром глобулиновой фракции в нашем случае является 1:2-1:16 (Рис. 2), так как с нативной глобулиновой фракцией (цельный титр)

получается ложно-положительный результат (скорее всего из-за большого количества адсорбированной глобулиновой фракции), а с титром 1:32 уже во всех пробах отрицательный результат (Рис. 3).

Таблица 1 – Результаты РЛА с положительным контролем

Группа №1	**Группа №2**	**Группа №3**	**Группа №4**
1.1 Титр глоб., фракции: Ц – **полож.** 1:2 – **полож.** 1:4 – **полож.** 1:8 – **полож.** 1: 16 – **полож.** 1: 32 - отр.	2.1 Титр глоб., фракции: Ц – **полож.**. 1:2 – **полож.** 1:4 – **полож.** 1:8 – **полож.** 1: 16 – **полож.** 1: 32 - отр.	3.1 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.	4.1 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.
1.2 Титр глоб., фракции: Ц – **полож.** 1:2 – **полож.**. 1:4 – **полож.** 1:8 – **полож.** 1: 16 – **полож.** 1: 32 - отр**.**	2.2 Титр глоб., фракции: Ц – **полож.** 1:2 – **полож.** 1:4 – **полож.** 1:8 – **полож.** 1: 16 – **полож.** 1: 32 - отр.	3.2 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.	4.2 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.
1.3 Титр глоб., фракции: **Ц – полож.** **1:2 – полож.** **1:4 – полож.** **1:8 – полож.** **1: 16 – полож.** 1: 32 - отр.	2.3 Титр глоб., фракции: **Ц – полож.** **1:2 – полож.** **1:4 – полож.** **1:8 – полож.** **1: 16 – полож.** 1: 32 - отр.	3.3 Титр глоб., фракции: **Ц – полож.** **1:2 – полож.** **1:4 – полож.** **1:8 – полож.** **1: 16 – полож.** 1: 32 - отр.	4.3 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.
1.4 Титр глоб., фракции: Ц – **полож.** 1:2 – **полож.** 1:4 – **полож.** 1:8 – **полож.** 1: 16 – **полож.** 1: 32 - отр.	2.4 Титр глоб., фракции: Ц – **полож.** 1:2 – **полож.** 1:4 – **полож.** 1:8 – **полож.** 1: 16 – **полож.** 1: 32 - отр.	3.4 Титр глоб., фракции: Ц – **полож.** **1:2 – полож.** **1:4 – полож.** **1:8 – полож.** **1: 16 – полож**. 1: 32 - отр.	4.4 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.
1.5 Титр глоб., фракции: Ц – **полож.** 1:2 – **полож.** 1:4 – **полож.** 1:8 – **полож.** 1: 16 – **полож.** 1: 32 - **полож.**	2.5 Титр глоб., фракции: Ц – **полож.** 1:2 – **полож.** 1:4 – **полож.** 1:8 – **полож.** 1: 16 – **полож.** 1: 32 - **полож.**	3.5 Титр глоб., фракции: Ц – **полож.**. **1:2 – полож.** **1:4 – полож.** **1:8 – полож.** **1: 16 – полож.** 1: 32 - отр.	4.5 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.
1.6 Титр глоб., фракции: **Ц – полож.** **1:2 – полож.** **1:4 – полож.** **1:8 – полож.** **1: 16 – полож.** 1: 32 - отр.	2.6 Титр глоб., фракции: **Ц – полож.** **1:2 – полож.** **1:4 – полож.** **1:8 – полож.** **1: 16 – полож.** 1: 32 - отр.	3.6 Титр глоб., фракции: **Ц – полож.** **1:2 – полож.** **1:4 – полож.** **1:8 – полож.** **1: 16 – полож.** 1: 32 - отр.	4.6 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.

Таблица 2 – Результаты РЛА с отрицательным контролем

Группа №1	**Группа №2**	**Группа №3**	**Группа №4**
1.1 Титр глоб., фракции: Ц – **полож.** 1:2 – **полож.** 1:4 – **полож.** 1:8 – **полож.** 1: 16 – **полож.** 1: 32 - отр.	2.1 Титр глоб., фракции: Ц – **полож.** 1:2 – **полож.** 1:4 – **полож.** 1:8 – **полож.** 1: 16 – **полож.** 1: 32 - отр.	3.1 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.	4.1 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.
1.2 Титр глоб., фракции: Ц – **полож.** 1:2 – **полож.** 1:4 – **полож.** 1:8 – **полож.** 1: 16 – **полож.** 1: 32 - отр.	2.2 Титр глоб., фракции: Ц – **полож.** 1:2 – **полож.** 1:4 – **полож.** 1:8 – **полож.** 1: 16 – **полож.** 1: 32 - отр.	3.2 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.	4.2 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.
1.3 Титр глоб., фракции: **Ц – полож.** **1:2 – полож.** **1:4 – полож.** **1:8 – полож.** **1: 16 – полож.** 1: 32 - отр.	2.3 Титр глоб., фракции: **Ц – полож.** **1:2 – полож.** **1:4 – полож.** **1:8 – полож.** **1: 16 – полож.** 1: 32 - отр.	3.3 Титр глоб., фракции: **Ц – полож.** **1:2 – полож.** **1:4 – полож.** **1:8 – полож.** **1: 16 – полож.** 1: 32 - отр.	4.3 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.
1.4 Титр глоб., фракции: Ц – **полож.** 1:2 – **полож.** 1:4 – **полож.** 1:8 – **полож.** 1: 16 – **полож.** 1: 32 - отр.	2.4 Титр глоб., фракции: Ц – **полож.** 1:2 – **полож.** 1:4 – **полож.** 1:8 – **полож.** 1: 16 – **полож.** 1: 32 - отр.	3.4 Титр глоб., фракции: Ц – **полож**. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.	4.4 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.
1.5 Титр глоб., фракции: Ц – **полож.** 1:2 – **полож.** 1:4 – **полож.** 1:8 – **полож.** 1: 16 – **полож.** 1: 32 - отр.	2.5 Титр глоб., фракции: Ц – **полож.** 1:2 – **полож.** 1:4 – **полож.** 1:8 – **полож.** 1: 16 – **полож.** 1: 32 - отр.	3.5 Титр глоб., фракции: Ц – **полож.** 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.	4.5 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.
1.6 Титр глоб., фракции: **Ц – полож.** **1:2 – полож.** **1:4 – полож.** **1:8 – полож.** **1: 16 – полож.** 1: 32 - отр.	2.6 Титр глоб., фракции: **Ц – полож.** **1:2 – полож.** **1:4 – полож.** **1:8 – полож.** **1: 16 – полож.** 1: 32 - отр.	3.6 Титр глоб., фракции: **Ц – полож.** **1:2 – полож.** **1:4 – полож.** **1:8 – полож.** **1: 16 – полож.** 1: 32 - отр.	4.6 Титр глоб., фракции: Ц – отр. 1:2 – отр. 1:4 – отр. 1:8 – отр. 1: 16 – отр. 1: 32 - отр.

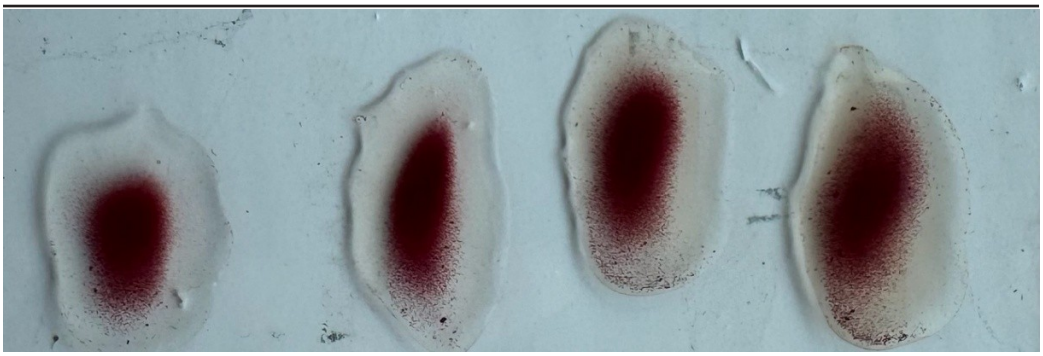


Рисунок 1 – Спонтанная агглютинация (ложноположительная реакция).

Рисунок 2 – Положительная реакция.

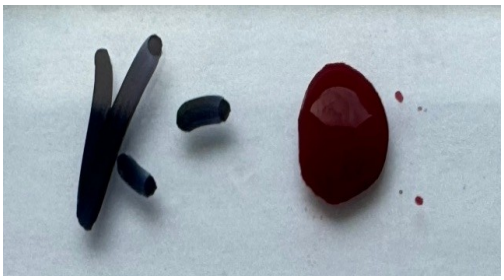


Рисунок 3 – Отрицательная реакция.

Для адсорбции на латексных частицах лучше использовать глобулиновую фракцию, полученную с помощью сульфата аммония с проведением последующего диализа. Так как глобулиновая фракция полученную с помощью ПЭГ 6000 с которая была адсорбирована на латексе трис-HCl буфером с дала отрицательный результат. Возможно для получения конкретных результатов, надо проводить более тщательную очистку глобулиновой фракции от ПЭГ 6000, так как его остаточные компоненты блокируют сайты адсорбции на латексных микросферах и не дают адсорбироваться глобулиновой фракции.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В рамках поставленной цели был разработан способ серологической диагностики на базе реакции латекс-агглютинации. Был подобран наиболее оптимальный буферный раствор для сенсибилизации латексных микросфер (трис-HCl буфер), а также подобрана наиболее подходящая модификация латексных микросфер с наибольшей адсорбирующей активностью (карбоксилированный латекс) и метод получения глобулиновой фракции. Данный способ серологической диагностики можно использовать для диагностики вируса геморрагического энтерита индеек в патологическом материале.

DEVELOPMENT OF LATEX AGGLUTINATION REACTION FOR THE DIAGNOSIS OF HEMORRHAGIC ENTERITIS IN TURKEYS

Kraskov D.A.*[1,2] – Associate Professor of the Department of Epizootology named after V.P. Urban, M.Sc. of the Department of Virology of VNIVIP; **Javadov E.D.** [1,2] – Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Epizootology named after V.P. Urban, scientific consultant of VNIVIP; **Veretennikov V.V.** [1,2] – PhD. Veterinarian, Senior lecturer at the Department of Epizootology named after V.P. Urban, Director of VNIVIP; **Tarlavin N.V.** [1,2] – PhD. Veterinarian, Senior Lecturer at the Department of Epizootology named after V.P. Urban, Deputy Director of Science at VNIVIP; **Dubovoy A.S.**[2] – Senior Researcher, Department of Virology at VNIVIP; **Samuseva G.N.** [2] – Senior Researcher, Department of Virology at VNIVIP;

[1]St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

[2]All-Russian Scientific Research Veterinary Institute of Poultry Farming – branch of the Federal State Budgetary Scientific Research Center "All-Russian Scientific Research and Technological Institute of Poultry Farming"

*- *kraskov-00@bk.ru*

ABSTRACT

With the rapid growth rate of the turkey breeding industry and the emergence of new viral diseases, we have to face the problem of the lack of diagnostic kits and methods of specific prevention of these diseases in Russia. The most common and economically dangerous immunosuppressive disease is hemorrhagic enteritis of turkeys. There are no kits available for the diagnosis of the GEI virus in Russia, which is why the purpose of our work was to develop a serological diagnostic method using the latex agglutination reaction as an example. 4 groups were created with the difference that different buffer solutions were used for diluting and washing latex, different types of latex, their size, as well as the type of purification of the globulin fraction (the first method using PEG 6000, and the second by precipitation of the globulin fraction with ammonium sulfate followed by dialysis). After deposition of the globulin fraction on latex microspheres, according to the method described in the article, checks were carried out in the following way: latex diagnosticum in a volume of 50 ml was dripped onto plastic and a supernatant of homogenate of turkeys infected with the GEI virus was added to it, and 50 ml of latex diagnosticum was dripped with the addition of a supernatant of homogenate of spleens of uninfected turkeys. The ingredients were mixed using a wooden stick and waited 10 minutes to account for the reaction. After taking into account the reaction, it was concluded that the best modification of latex is carboxylated with a diameter of 200-400 nm, the best buffer is tris-salt, and the best dilution of the globulin fraction is 1:2-1:16.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Диагностика геморрагического энтерита индеек с использованием реакции диффузионной преципитации/ Д.А. Красков, Э. Д. Джавадов, Н. В. Тарлавин [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2025. – № 3. – С. 26-28.

2. Изучение биологических свойств возбудителя геморрагического энтерита индеек / Д. А. Красков, Э. Д. Джавадов, В. В. Веретенников [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 4. – С. 52-58.

3. Красков, Д. А. Геморрагический энтерит индеек. Современные представления о болезни / Д. А. Красков // Ветеринария в АПК: Материалы Международной научно-практической конференции, Новосибирск, 04–06 июня 2024 года. – Новосибирск: Союзмолоко, 2024. – С. 83-85.

4. Определение реактивности иммунитета индейки с помощью нитросинего тетразолия / Э. Д. Джавадов, Н. В. Тарлавин, В. В. Веретенников, Д. А. Красков // Актуальные проблемы ветеринарной медицины: сборник научных трудов. Том № 153. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2022. – С. 19-23.

5. Разработка молекулярно-биологического способа диагностики ге-

моррагического энтерита индеек / Д. А. Красков, Э. Д. Джавадов, В. В. Веретенников, Н. В. Тарлавин // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2024. – № 4. – С. 37-39.
6. Патогенез геморрагического энтерита индеек / Д. А. Красков, А. С. Дубовой, Г. Н. Самсуева, В. С. Бочкарев // SPbVetScience : сборник научных трудов. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2025. – С. 56-60.
7. Dhama, K., Gowthaman, V., Karthik, K., Tiwari, R., Sachan, S., Kumar, M. A., Munir, M. (2017). Haemorrhagic enteritis of turkeys – current knowledge. Veterinary Quarterly, 37(1), 31–42.
8. Lobová, D., & Celer, V. (2015). Expression and serological reactivity of hemorrhagic enteritis virus hexon protein. Folia Microbiologica, 61(3), 227–232.
9. Musa L, Rapi MC, Franciosini MP, Lupini C, Catelli E, Addis MF, Grilli G. Turkey Hemorrhagic Enteritis (THE): A Short Overview. Pathogens. 2024 Aug 6;13(8):663.
10. Tykałowski B, Śmiałek M, Koncicki A, Ognik K, Zduńczyk Z, Jankowski J. The immune response of young turkeys to haemorrhagic enteritis virus infection at different levels and sources of methionine in the diet. BMC Vet Res. 2019 Nov 1;15(1):387.

REFERENCES

1. Diagnosis of hemorrhagic enteritis in turkeys using the diffusion precipitation reaction/ D.A. Kraskov, E. D. Javadov, N. V. Tarlavin [et al.] // Veterinary Medicine of Kuban. 2025. No. 3. pp. 26-28.
2. Study of the biological properties of the causative agent of hemorrhagic enteritis in turkeys / D. A. Kraskov, E. D. Javadov, V. V. Veretennikov [et al.] // International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2024. – No. 4. – pp. 52-58.
3. Kraskov, D. A. Hemorrhagic enteritis of turkeys. Modern concepts of the disease / D. A. Kraskov // Veterinary medicine in agriculture : Proceedings of the International Scientific and Practical Conference, Novosibirsk, June 04-06, 2024. Novosibirsk: Soyuzmoloko Publ., 2024, pp. 83-85.
4. Determination of turkey immunity reactivity using nitrosine tetrazolium / E. D. Javadov, N. V. Tarlavin, V. V. Veretennikov, D. A. Kraskov // Actual problems of veterinary medicine: collection of scientific papers. Volume No. 153. Saint Petersburg: Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2022. pp. 19-23.
5. Development of a molecular biological method for the diagnosis of hemorrhagic enteritis in turkeys / D. A. Kraskov, E. D. Javadov, V. V. Veretennikov, N. V. Tarlavin // Regulatory and legal regulation in veterinary medicine. - 2024. – No. 4. – pp. 37-39.
6. Pathogenesis of hemorrhagic enteritis in turkeys / D. A. Kraskov, A. S. Dubovoy, G. N. Samsueva, V. S. Bochkarev // SPbVetScience : collection of scientific papers. Saint Petersburg : Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2025. pp. 56-60.
7. Dhama, K., Gowthaman, V., Karthik, K., Tiwari, R., Sachan, S., Kumar, M. A., Munir, M. (2017). Haemorrhagic enteritis of turkeys – current knowledge. Veterinary Quarterly, 37(1), 31–42.
8. Lobová, D., & Celer, V. (2015). Expression and serological reactivity of hemorrhagic enteritis virus hexon protein. Folia Microbiologica, 61(3), 227–232.
9. Musa L, Rapi MC, Franciosini MP, Lupini C, Catelli E, Addis MF, Grilli G. Turkey Hemorrhagic Enteritis (THE): A Short Overview. Pathogens. 2024 Aug 6;13(8):663.
10. Tykałowski B, Śmiałek M, Koncicki A, Ognik K, Zduńczyk Z, Jankowski J. The immune response of young turkeys to haemorrhagic enteritis virus infection at different levels and sources of methionine in the diet. BMC Vet Res. 2019 Nov 1;15(1):387.

УДК: 616-097:578.822:57.032:636.598
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.68

ИЗУЧЕНИЕ ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ИММУНОГЕНЕЗА У ГУСЕЙ В ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ МЕТОДОМ ИМУНОФЕРМЕТНОГО АНАЛИЗА

Березкин В. А.[1] – канд. ветеринар. наук, асс. каф. эпизоотологии им. В.П. Урбана (ORCID 0000-0002-5557-1287); **Голодяева М.С.**[1*] – канд. ветеринар. наук, доц. каф. внутренних болезней животных им. А.В. Синева (ORCID 0000-0002-4059-526X); **Никитина Н.В.** [2] – канд. биолог. наук, доц., вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-5557-1287)

[1] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
[2] Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства (ВНИВИП) – филиал ФГБНУ Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства»

*www.fytbo93@mail.ru

Ключевые слова: *парвовирусный энтерит гусей, иммунитет, антитела, иммуноферментный анализ, диагностика.*
Keywords: *parvovirus enteritis in geese, immunity, antibodies, enzyme-linked immunosorbent assay, diagnostics.*

Поступила: 10.06.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Парвовирус гусей (ПГ) остается глобальной проблемой в птицеводстве. По этой причине необходима разработка нового подхода к диагностике, который будет проще и быстрее традиционных тестов, при этом раскрывать породную и возрастную предрасположенность. Нами проведено серологическое исследование среди гусей разного возраста пород "Линда" и "Крупная серая" на предмет наличия специфических антител к вирусу-возбудителю ПГ после иммунизации живым штаммовым препаратом вакцины ЛИВ-22. Для оценки напряженности гуморального иммунитета использовали метод иммуноферментного анализа (ИФА). На сегодняшний день ИФА обладает такими преимуществами, как простота и быстрота выполнения работы, а также позволяет исследовать большое количество образцов одновременно. Однако используемый нами метод до сих пор использовался для определения уровня антител в образцах без проведения взаимосвязи между породой и возрастом птицы. Исходя из последнего, данное исследование имеет широкое прикладное значение, поскольку позволяет более детально изучить природу распространения вируса. Серия исследований доказала прямую связь между уровнем антител и возрастными и породными особенностями организма гусей. Установлено, что птица старшего возраста демонстрирует более высокие показатели среднеарифметиче-

ского титра антител по сравнению с молодняком. Последнее позволяет сделать вывод о целесообразности дифференцированного подхода к проведению профилактических мероприятий и вакцинации с учетом особенностей каждой конкретной группы птиц, исходя из их породной принадлежности и возраста. Полученные результаты являются основой для разработки наиболее оптимальных схем вакцинации и рекомендаций по улучшению санитарно-гигиенических условий содержания птиц, способствующих снижению риска возникновения вспышек вирусного энтерита гусей.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Серьезным препятствием на пути развития промышленного гусеводства, наряду с факторами нарушения технологического режима выращивания птицы, являются инфекционные болезни молодняка, среди которых особое место занимает вирусный энтерит гусей (болезнь Держи, парвовирусная болезнь гусей, ВЭГ) – контагиозная болезнь, вызываемая фильтрующимся вирусом [4,9,13].

Возбудитель ВЭГ – Parvovirus, относится к роду Dependovirus, подсемейству Parvovirinae, семейству Parvoviridae. К парвовирусному энтериту восприимчивы гуси и мускусные утки, другие виды сельскохозяйственной птицы не восприимчивы [14,15]. В естественных условиях патологии подвержены гусята в возрасте от двух до 25 дней (чаще от шести до десяти дней). Смертность молодняка от данной болезни колеблется в пределах 30,0% – 80,0% [3].

В борьбе с вирусными заболеваниями в промышленном птицеводстве строгое соблюдение ветеринарно-санитарных норм является недостаточно эффективным мероприятием для сохранения здорового поголовья [10]. В связи с чем обязательной частью мер в предотвращении ВЭГ является профилактическая вакцинация [11,15].

Для предупреждения рассматриваемой патологии используют активную и пассивную специфическую иммунизацию. Активная иммунопрофилактика предусматривает применение аттенуированных вирусвакцин и инактивированных препаратов, при введении в организм которых индуцируется специфический иммунитет [2].

Несмотря на широкое применение вирусвакцины ВНИВИП из штамма «клон 6» и ВИЕВ из штамма «ГУСИ ЛИВ 22» культуральной и инактивированной эмульгированной вакцины «Авипарвовак» против ПГ в Российской Федерации и странах Содружества Независимых Государств (СНГ), проблема борьбы с этой болезнью остается весьма актуальной.

Цель работы – изучить антигенные свойства вирусвакцины ВИЭВ из аттенуированного штамма «Лив 22» против вирусного энтерита гусей в производственных условиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объектом исследования стали гуси пород "Линда" и "Крупная серая" в одном из крестьянско-фермерских хозяйств Республики Башкортостан в количестве 172 головы (таблица 1).

Материалом для анализа послужила сыворотка крови птиц (в среднем объеме 0,5-1,0 $см^3$ каждая проба). Кровь отбирали из подкрыльцевой вены с соблюдением правил асептики и антисептики [1]. В полученных образцах определяли наличие антител к антигену вируса энтерита в иммуноферментном анализе (ИФА), после иммунизации живой культуральной вакциной ГУСИ ЛИВ-22.

Серологические исследования методом ИФА проводили с использованием диагностического набора для определения антител в сыворотке крови гусей в разведении 1:400, разработанном во Всероссийском научно-исследовательском ветеринарном институте птицеводства (ВНИВИП). Тест-система основана на использовании принципа непрямого твердофазного ИФА, в ходе которого происходит выявление антител за счет их связывания с иммобилизованным в лунках полистиролового планшета антигена пра-

вовируса гусей. Расчет титра сыворотки по одному разведению (1:400) проводили по формуле, которая связывает S/P-отношение с конечным титром: *IgT=1,41 (IgS/P)+3,56*. Расчет S/P-отношения: *S/P = $ОП_{492}$исследуемой пробы – N / P – N*, где P – среднее значение ОП (оптической плотности) положительного контроля (P), N – среднее значение ОП отрицательного контроля (N) [7].

Таблица 1 – Объект исследования (входные данные)

Порода гусей	Год рождения	Количество голов исследовано	Дата исследования сыворотки крови
Линда	2021	19	03.03.2025
Линда	2021	15	03.06.2025
Линда	2024	15	03.06.2025
Линда	2024	20	03.03.2025
Крупная серая	2022	18	03.03.2025
Крупная серая	2022	15	03.06.2025
Крупная серая	2024	20	03.03.2025
Крупная серая	2024	15	03.06.2025

РЕЗУЛЬТАТЫ/ RESULTS

Предлагаемая методика диагностики вирусного энтерита гусей включает в себя, кроме стандартного наблюдения за птицей с целью изучения антигенных свойства вирусвакцины и проведения патологоанатомического вскрытия для установления причины заболевания или падежа, также применение иммуноферментного анализа сыворотки крови [5,6]. При исследовании получены следующие результаты.

Исходя из данных таблицы 2, определена следующая закономерность. Наибольший титр антител в сыворотке крови наблюдается у гусей более старшего возраста. Причем, порода "Крупная серая" демонстрирует высокую концентрацию иммуноглобулинов в старшем возрасте. Так у птицы породы "Линда" 2021 года рождения (дата взятия материала 03.03.2025) среднеарифметический титр (САТ) составил 6123, что на 53,0% выше, чем у гусей это же породы 2024 года рождения. У птиц породы "Крупная серая" 2022 года рождения (дата взятия материала 03.03.2025) среднеарифметический титр составил 13392, что на 83,8% больше, чем у особей данной породы 2024 года рождения. Приведенные результаты свидетельствуют о влиянии количества вакцинаций (туров) на иммунный статус гусей, что важно учитывать при разработке профилактических мероприятий против рассматриваемого заболевания.

Таблица 2 – Результаты исследований сыворотки крови гусей на наличие антител к антигену вируса энтерита в ИФА

Объект исследования	Средний арифметический титр
Линда 2021 г.р., n=19	6123
Линда 2021 г.р., n=15	4756
Линда 2024 г.р., n=15	1590
Линда 2024 г.р., n=20	2878
Крупная серая 2022 г.р., n=18	13392
Крупная серая 2022 г.р., n=15	8495
Крупная серая 2024 г.р., n=20	2885
Крупная серая 2024 г.р., n=15	2180

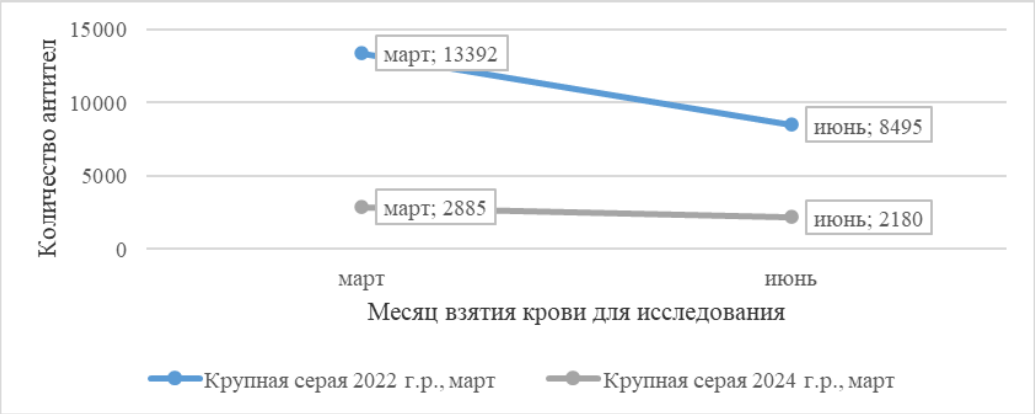


Рисунок 1 – Динамика распада антител у гусей породы "Крупная серая".

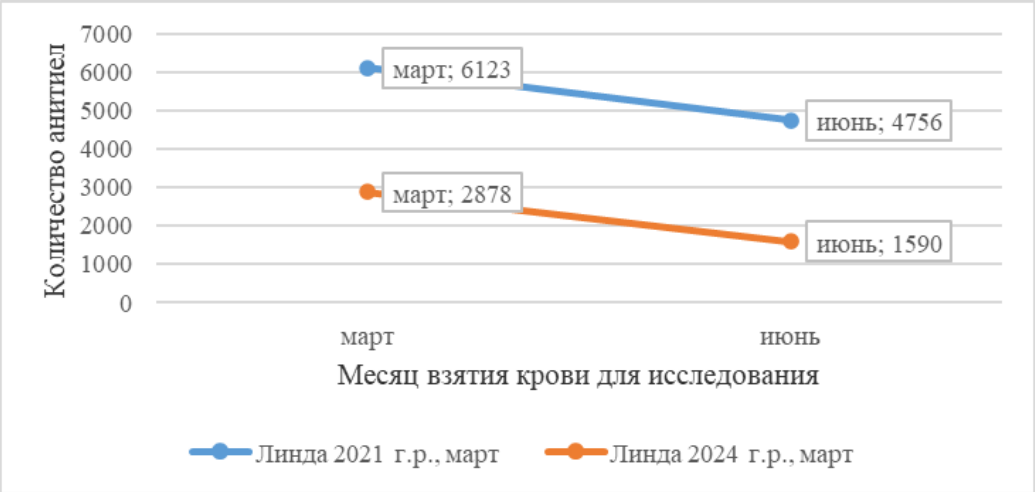


Рисунок 2 – Динамика распада антител у гусей породы "Линда".

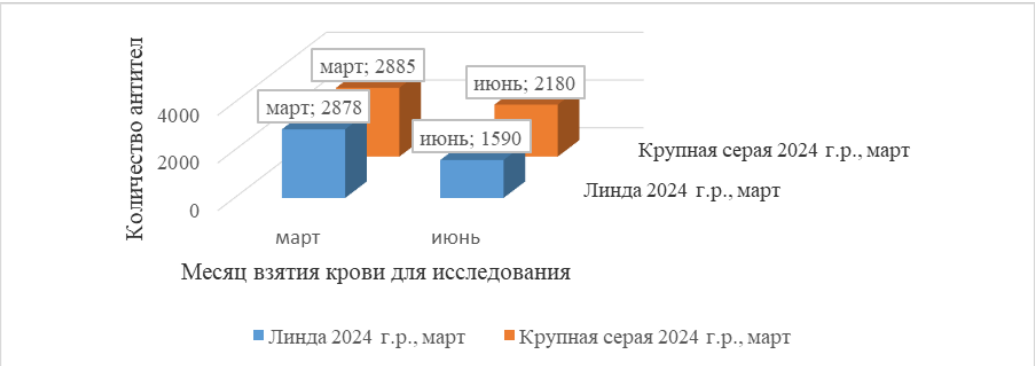


Диаграмма 3 – Титр антител у исследуемых гусей 2024 г.р.

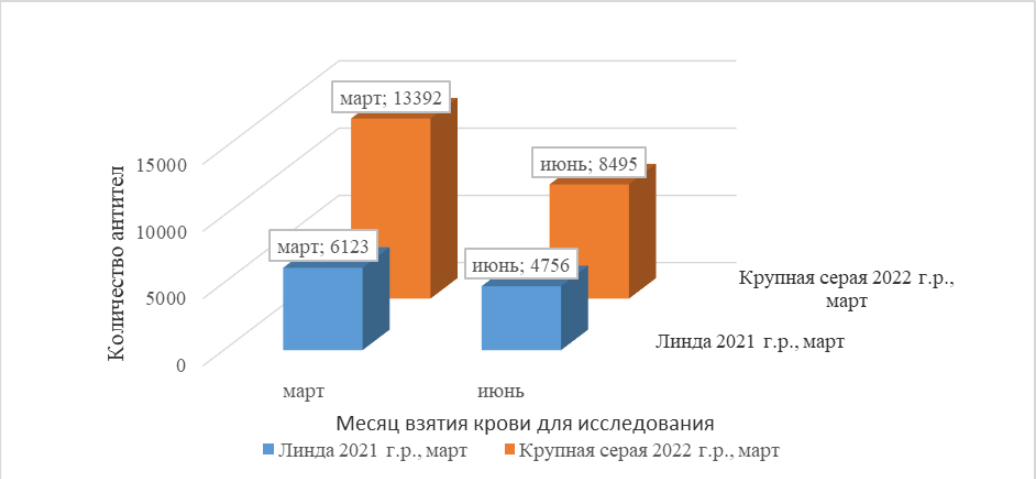


Диаграмма 4 – Титр антител у исследуемых гусей породы 2021 и 2022 г.р.

Рисунок 1 представляет собой динамику изменений титра антител в сыворотке крови у гусей породы "Крупная серая" 2022 и 2024 г.р. в течение периода с марта по июнь. Как результат, можно отметить снижение уровня антител за три месяца. Меньшее падение отмечается у гусей 2024 г.р. Данное обстоятельство можно объяснить возрастной предрасположенностью и количеством вакцинаций, так как птица 2024 года рождения получила только один тур вакцинации, в отличии от птицы 2022 года рождения (гуси вакцинировались ежегодно). Из выше сказанного можно предположить, что возрастная предрасположенность и количество вакцинаций играет важную роль в скорости распада антител.

Рисунок 2 являет собой динамику распада титра антител в сыворотке крови у гусей породы "Линда" 2021 и 2024 г.р. в течение периода с марта по июнь. Как и у птицы породы "Крупная серая", в данном случае также отмечается снижение уровня иммуноглобулинов в течение исследуемого промежутка времени. Таким образом, представленные результаты (диаграммы 1-2) подчеркивают значимость регулярного мониторинга титра антител на болезнь Держи и своевременного проведения противоэпизоотических и ветеринарно-санитарных мероприятий в гусеводческих хозяйствах.

Представленные диаграммы 3 и 4 показывают зависимость уровня антител в сыворотке крови гусей от породы и времени отбора проб (март и июнь).

Анализируя эти графики, можно сделать вывод, что порода оказывает значительное влияние на уровень антител против вирусного энтерита. Гуси породы "Крупная серая" обладают большей способностью вырабатывать антитела, что обеспечивает более высокий защитный барьер. Несмотря на общее снижение титра антител со временем, относительные пропорции сохраняются, подчеркивая генетическую предрасположенность конкретных пород к формированию более устойчивого иммунитета. Приведенные результаты важны для селекции высокопрочных линий, разработки эффективных вакцин и профилактики инфекций в условиях промышленного производства.

ВЫВОДЫ/ CONCLUSION

Во всех исследованных пробах сыворотки крови обнаружены антитела к вирусу энтерита гусей. При постановке ИФА в одном разведении (инструментальном методе учета) пробы сывороток крови, содержащие антитела в титре 1:400 и ниже считаются отрицательными, 1:401-1:499 – сомнительными,

а 1:500 и выше – положительными. Птицу считают иммунной к вирусному энтериту гусей при напряженности иммунитета 80 и более процентов (т.е. в 80 и более процентах исследованных проб сывороток крови титр антител 1:800 и выше). В связи с последним следует отметить, что наблюдалась зависимость среднеарифмитических титров от породы и возраста птицы ("Линда": 2021 и 2024 гг. – 1:6123 и 1:2878, соответственно; крупная серая: 2022 ,2024 гг. – 1:13392, 1:2885, соответственно).

Таким образом, исследование показало различия в уровне антител у гусей разных пород и возрастных групп, подчеркивая необходимость индивидуального подхода к вакцинации и профилактике вирусного энтерита внутри гусеводческих хозяйств.

STUDY OF POST-VACCINAL IMMUNOGENESIS IN GOATS UNDER PRODUCTION CONDITIONS BY IMMUNOFERMENT ANALYSIS

Berezkin V.A.[1] – PhD. Veterinary Sciences, ass. kaf. of epizootology named after V.P. Urban (ORCID 0000-0002-5557-1287); **Golodyaeva M.S.**[1]* – PhD. Veterinary Sciences, Associate Professor of the A.V. Sinev Department of Internal Animal Diseases (ORCID 0000-0002-4059-526X); **Nikitina N.V.**[2] **–** PhD. Biol. Sci., Associate Professor, Leading Researcher (ORCID 0000-0002-5557-1287)

[1] St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

[2] All-Russian Research Veterinary Institute of Poultry Farming (VNIIVIP) is a branch of the Federal Research Center "All-Russian Research and Technological Institute of Poultry Farming"

*www.fytbo93@mail.ru

ABSTRACT

Goose parvovirus (PG) remains a global problem in poultry farming. For this reason, it is necessary to develop a new diagnostic approach that will be simpler and faster than traditional tests, while revealing the breed and age predisposition. We conducted a serological study among geese of different ages of the "Linda" and "Large Gray" breeds for the presence of specific antibodies to the pathogen virus PH after immunization with a live strain of the LIV-22 vaccine. The method of enzyme immunoassay (ELISA) was used to assess the intensity of humoral immunity. Today, ELISA has advantages such as simplicity and speed of work, and also allows you to examine a large number of samples at the same time. However, the method we used has so far been used to determine the level of antibodies in samples without making a relationship between the breed and the age of the bird. Based on the latter, this study has wide practical significance, as it allows for a more detailed study of the nature of the spread of the virus. A series of studies have proven a direct link between the level of antibodies and the age and breed characteristics of the geese. It was found that the older bird shows higher indices of the arithmetic mean titer of antibodies in comparison with the young. The latter allows us to conclude that it is advisable to take a differentiated approach to preventive measures and vaccination, taking into account the characteristics of each specific group of birds, based on their breed and age. The results obtained are the basis for the development of the most optimal vaccination schemes and recommendations for improving the sanitary and hygienic conditions of poultry keeping, contributing to reducing the risk of outbreaks of viral enteritis in geese.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Взятие крови у животных: учебно-методическое пособие для студентов учреждений высшего образования, обучающихся по специальностям «Ветеринарная медицина»; «Ветеринарная санитария и экспертиза»; «Ветеринарная фармация» / Ю. К. Коваленок [и др.] ; Витебская государственная академия ветеринарной медицины, Кафедра клинической диагностики. – Витебск: ВГАВМ, 2019. – 31 с.

2. Виноходов, О. В. Анализ технологии выращивания цыплят-корнишонов - нового направления в мясном птицеводстве /

О. В. Виноходов, А. А. Сухинин // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2024. – № 4. – С. 116-121. – DOI 10.52419/issn2782-6252.2024.4.116. – EDN MVTEFH.
3. «Временная инструкция о мероприятиях по борьбе с вирусным энтеритом гусят» утверждена Главным управлением ветеринарии Министерства сельского хозяйства СССР 16 июня 1972 года.
4. Малушко В.В. Вирусный энтерит гусей / Малушко В.В. // Справочник вет. врача птицеводческих предприятий. - М.: Колос, 1982.-С.103-105.
5. Методика изучения артериального русла птиц / А. В. Прусаков, М. В. Щипакин, С. В. Вирунен [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2017. – № 1. – С. 34-36. – EDN YIPFWF.
6. Особенности лечения парвовирусного энтерита гусей вирусной этиологии в условиях фермерского хозяйства Центрального федерального округа / В. А. Березкин, М. С. Голодяева, А. С. Яковлева, Н. В. Мищенко // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2025. – № 3. – С. 38-41. – DOI 10.52419/issn2782-6252.2025.3.38. – EDN GWCDAK.
7. Определение специфических антител к вирусу энтерита в сыворотках крови гусей методом иммуноферментного анализа (методические положения). – СПб: ВНИВИП. – 2023. – 24.
8. Парвовирусная инфекция гусей (диагностика, профилактика и меры борьбы) (методические положения). – СПб: ВНИВИП. – 2022. – 24.
9. Патологоанатомические изменения у гусей линдовской породы при вирусном энтерите / Н. В. Тарлавин, В. А. Губернаторова, В. В. Веретенников, Д. А. Красков // SPbVetScience : сборник научных трудов. Том Выпуск 4. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2023. – С. 90-93. – EDN MZWJAO.
10. Садомов, Н.А. С 27 Гигиена сельскохозяйственной птицы: учебно-методическое пособие. – Горки: Белорусская государственная сельскохозяйственная академия, 2009. 112с. ISBN 978-985-467-194-9.
11. Тарлавин, Н. В. Вакцинопрофилактика в промышленном птицеводстве / Н. В. Тарлавин // Вирусные инфекции - от диагностики к клинике: Сборник тезисов Всероссийской конференции молодых ученых, Санкт-Петербург, 11–12 апреля 2024 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 2024. – С. 62-63. – EDN NUZMWE.
12. Трефилов, Б. Б. Иммуноферментная тест-система для выявления антител к парвовирусу гусей / Б. Б. Трефилов, Н. В. Никитина // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 12-12. – С. 2590-2594. – EDN TJIIDH.
13. Трефилов Б.Б. Разработка и внедрение средств диагностики и специфической профилактики наиболее опасных вирусных болезней птиц (инфекционный ларинготрахеит, вирусный энтерит гусей, реовирусный теносиновит): дис. … д-ра вет. наук / Трефилов Б.Б. – СПб., 2000.
14. Трефилов Б.Б. Основы профилактики вирусных болезней птиц / Трефилов Б.Б., Коровин Р.Н., Придыбайло Н.Д. // Матер. Междунар. юбил. научно-прат. конф.-СПб,2004.
15. Трефилов, Б. Б. Парвовирусная инфекция гусей / Б. Б. Трефилов, Н. В. Никитина, Л. И. Явдошак. – Санкт-Петербург: ООО «РКАгат», 2013. – 98 с.

REFERENCES

1. Blood collection from animals: an educational and methodological guide for students of institutions of higher education studying in the specialties "Veterinary medicine"; "Veterinary sanitation and expertise"; "Veterinary pharmacy" / Y. K. Kovalenok [et al. Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Department of Clinical Diagnostics. Vitebsk: VGAVM, 2019. 31 p.
2. Vinokhodov, O. V. Analysis of the technology of growing Cornish chickens - a new direction in meat poultry farming / O. V. Vinokhodov, A. A. Sukhinin // Regulatory and legal regulation in veterinary medicine.

– 2024. – No. 4. – Pp. 116-121. – DOI 10.52419/issn2782-6252.2024.4.116. – EDN MVTEFH.
3. The "Temporary instruction on measures to combat viral enteritis of goslings" was approved by the Main Directorate of Veterinary Medicine of the USSR Ministry of Agriculture on June 16, 1972.
4. Malushko V.V. Viral enteritis of geese / Malushko V.V. // Handbook of Veterinary Medicine. M. : Kolos, 1982. pp.103-105.
5. Methodology for studying the arterial bed of birds / A. V. Prusakov, M. V. Shchipakin, S. V. Virunen [et al.] // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2017. – No. 1. – Pp. 34-36. – EDN YIPFWF.
6. Features of treatment of parvovirus enteritis of geese of viral etiology in the conditions of farming in the Central Federal District / V. A. Berezkin, M. S. Golodyaeva, A. S. Yakovleva, N. V. Mishchenko // Regulatory and legal regulation in veterinary medicine. – 2025. – No. 3. – pp. 38-41. – DOI 10.52419/issn2782-6252.2025.3.38. – EDN GWCDAK.
7. Determination of specific antibodies to enteritis virus in geese blood serum by enzyme immunoassay (guidelines). – St. Petersburg: VNIVIP. – 2023. – 24.
8. Parvovirus infection of geese (diagnosis, prevention and control measures) (methodological provisions). – St. Petersburg: VNIVIP. – 2022. – 24.
9. Pathoanatomic changes in Lindow geese with viral enteritis / N. V. Tarlavin, V. A. Gubernatorova, V. V. Veretennikov, D. A. Kraskov // SPbVetScience : collection of scientific papers. Volume Issue 4. – Saint Petersburg: Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2023. – pp. 90-93. – EDN MZWJAO.
10. Sadomov, N.A. S. 27 Hygiene of poultry: an educational and methodical manual. – Gorki: Belarusian State Agricultural Academy, 2009. 112s. ISBN 978-985-467-194-9.
11. Tarlavin, N. V. Vaccine prevention in industrial poultry farming / N. V. Tarlavin // Viral infections - from diagnosis to clinic: Collection of abstracts of the All-Russian Conference of Young Scientists, St. Petersburg, April 11-12, 2024. – St. Petersburg: Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, 2024. – pp. 62-63. – EDN NUZMWE.
12. Trefilov, B. B. Enzyme immunoassay system for detecting antibodies to goose parvovirus / B. B. Trefilov, N. V. Nikitina // Fundamental research. – 2014. – № 12-12. – pp. 2590-2594. – EDN TJIIDH.
13. Trefilov B.B. Development and implementation of diagnostic tools and specific prevention of the most dangerous viral diseases of birds (infectious laryngotracheitis, viral enteritis of geese, reoviral tenosynovitis) : dis. ... Doctor of Vet. sciences / Trefilov B.B. – St. Petersburg, 2000.
14. Trefilov B.B. Fundamentals of prevention of viral diseases of birds / Trefilov B.B., Korovin R.N., Pridybaylo N.D. // Mater. International yubil. scientific and practical conference-St. Petersburg, 2004.
15. Trefilov, B. B. Parvovirus infection of geese / B. B. Trefilov, N. V. Nikitina, L. I. Yavdoshak. – Saint Petersburg: RKAgat LLC, 2013. 98 p.

УДК: 619:578.826.1
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2025.4.76

ГЕМОРРАГИЧЕСКИЙ ЭНТЕРИТ ИНДЕЕК И СВЯЗАННЫЕ С НИМ ИНФЕКЦИИ (ОБЗОР)

Дмитриева М.Е.* – канд. вет. наук, ученый секретарь (ORCID 0000-0001-6433-7401); **Дубовой А.С.** – ст. науч. сотр. отдела вирусологии (ORCID 000-0002-2855-5505); **Самусева Г.Н.** – ст. науч. сотр. отдела вирусологии (ORCID 0000-0002-5341-3664); **Бочкарев В.С.** – канд. вет. наук, ст. науч. сотр. отдела вирусологии (ORCID 0000-0003-4530-0608); **Красков Д.А.** – мл. науч. сотр. отдела вирусологии (ORCID 0000-0002-2362-2641)

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства»

** Dmitrieva1377@yandex.ru*

Ключевые слова: *вирус, геморрагический энтерит индеек, болезнь мраморной селезенки фазанов, аденовирусная спленомегалия кур, диагностика, специфическая профилактика.*

Key words: *virus, hemorrhagic enteritis of turkeys, marbled spleen disease of pheasants, adenovirus splenomegaly of chickens, diagnostics, specific prevention.*

Финансирование: *Работа выполнена Всероссийским научно-исследовательским ветеринарным институтом птицеводства в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (номер госрегистрации НИОКТР 125041505203-4)*

Поступила:13.07.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

В условиях интенсивного развития индейководства расширяется и спектр актуальных инфекционных болезней, своевременная диагностика и профилактика которых, предотвращает значительные экономические потери птицеводческих хозяйств. Геморрагический энтерит индеек является острой высоко контагиозной вирусной болезнью индеек и фазанов, характеризующейся желудочно-кишечными кровотечениями, некрозом селезенки, диареей и внезапной гибелью. Вирус геморрагического энтерита индеек, кроме этого, вызывает иммунодепрессию, которая повышает восприимчивость индеек к бактериальным (*Escherichia coli*, *Ornithobacterium rhinotracheale*) и вирусным инфекциям, что также приводит к экономическому ущербу. Мониторинг литературных источников осуществлялся по российским и зарубежным базам цитирования с использованием ключевых слов, связанных с геморрагическим энтеритом индеек, болезнью мраморной селезенки и аденовирусной спленомегалией кур. В обзор вошли материалы исследований, опубликованные с 1993 по 2020 годы, а также сведения из статьи 1937 года, в которой были впервые опубликованы данные о геморрагическом энтерите индеек. В Российской Федерации геморрагический энтерит индеек и связанные с ним инфекции малоизучены, средства специфической профилактики не разработаны. Информация о биологических свойствах возбудителей, об

эпизоотологических особенностях течения геморрагического энтерита индеек и связанных с ним инфекций, методах диагностики и средствах специфической профилактики поможет ветеринарным специалистам в вопросах обеспечения эпизоотологического благополучия по данным инфекциям. Эффективность мероприятий при возникновении болезни зависит от своевременной постановки диагноза. Правильность отбора проб патологического материала, который необходимо отправить в лабораторию для выделения и идентификации возбудителя, непосредственно влияет на скорость проведения исследований и их достоверность. Целью данной статьи являлось представить современные сведения о геморрагическом энтерите индеек и связанных с ним инфекциях, таких как болезнь мраморной селезенки фазанов и аденовирусная спленомегалия кур.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Геморрагический энтерит индеек – острая высоко контагиозная вирусная болезнь индеек и фазанов, характеризующаяся депрессией, желудочно-кишечными кровотечениями, некрозом селезенки, диареей и внезапной гибелью.

Геморрагический энтерит индеек (ГЭИ) впервые был описан в 1937 году в США (штат Меннисота) B.S. Pomeroy и R. Fenstermacher [1,2,3]. Болезнь распространена в большинстве штатов США, Канаде, Японии, Австралии, Индии, Израиле, странах Европы и др. странах, где развито индейководство, в том числе в Российской Федерации.

Болезнь мраморной селезенки фазанов (БМС) — высоко контагиозная болезнь, поражающая фазанов в возрасте 3–8 месяцев, сопровождающаяся отеком легких, застойными явлениями, одышкой и гибелью. Возбудитель БМС серологически идентичен вирусу ГЭИ, имеет лишь незначительные отличия на молекулярно-генетическом уровне [4].

Аденовирусная спленомегалия кур (АСК) – вирусная болезнь кур, имеющая схожие клинические и патологоанатомические признаки с болезнью мраморной селезенки фазанов. При вскрытии цыплят обнаруживают увеличенную «мраморную» печень, дегенеративные изменения в лимфоидной ткани легких, реже – легочные кровоизлияния и отек легких [4].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Мониторинг литературных источников осуществлялся по российским и зарубежным базам цитирования с использованием ключевых слов, связанных с геморрагическим энтеритом индеек, болезнью мраморной селезенки и аденовирусной спленомегалией кур. В обзор вошли материалы исследований, опубликованные с 1993 по 2020 годы, а также сведения из статьи 1937 года, в которой были впервые опубликованы данные о геморрагическом энтерите индеек.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Этиология и патогенез. Вирус ГЭИ – безоболочечный ДНК-содержащий вирус, относящийся к новой группе аденовирусов индейки 3 (TAdV-3), к семейству *Adenoviridae*, роду *Siadenovirus,* виду *Turkey siadenovirus A* (TadV-A).

Гомологии последовательностей ДНК показали, что вирус ГЭИ и вирус БМС имеют существенные отличия от других авиаденовирусов, поэтому они были выделены в отдельный новый род *Siadenovirus* и получили одно видовое название. Род *Siadenovirus* включает 11 видов аденовирусов, инфицирующих лягушек, птиц и черепах [1,6,7]. Название рода происходит от открытой рамки считывания (ORF) в ранней области транскрипции, которая имеет высокую гомологию последовательности с бактериальными генами, кодирующими сиалидазу [7].

Вирусные частицы TAdV-3 безоболочечные, имеют икосаэдрический тип симметрии, капсид состоит из 252 капсомеров [8]. Вирион содержит 13 структурных белков [1,5]. Капсид составляют тримерный гексон, пентамерное основание пентона и тримерное волокно, которое выступает из основания пентона. В отличие от авиаденовирусов, на каждой вершине присутствует только одно волокно пентона [7]. Вирионы имеют диаметр 60–90 нм [8]. Сравнение полных геномов для виру-

лентных и авирулентных штаммов ВГЭИ показывает, что они на 99,9% идентичны [9]. Геном вируса является одним из самых маленьких геномов аденовирусов. Его длина составляет приблизительно 26,3 кб [4].

TAdV-3 остается стабильным при нагревании при температуре плюс 65°C в течение 1 часа, в жидкости при плюс 37° С в течение 4 недель или при плюс 4°C в течение 6 месяцев, при замораживании при температуре минус 20°C в течение 4 лет и при низком pH. Вирус теряет инфекционность при температуре плюс 70° С в течение 1 часа, при высушивании при температуре плюс 37°C или плюс 25°C в течение 1 недели. Вирус устойчив к хлороформу, эфиру и pH 3 в течение 30 мин. Дезинфицирующие средства на основе хлора и йода, четвертичные аммониевые соединения эффективны против TAdV-3 [1,8].

За антигенную активность, возможно, отвечают внешние белки оболочки, то есть гексон, пентоновое волокно и пентоновое основание, которые вырабатываются в больших количествах [8].

Макрофаги и В-лимфоциты, вероятно, являются первичными клетками-мишенями. Основным местом репликации вируса, по-видимому, является селезенка. Однако, инфицированные клетки были обнаружены и в других органах и тканях, включая кишечник, фабрициеву сумку, миндалины в слепой кишке, тимус, печень, почки, лейкоциты периферической крови и легкие.

Патогенез ГЭИ изучен недостаточно. Штаммы TAdV-3 обладают лимфотропными и лимфоцитопатическими свойствами [1,8,10,11]. Основной мишенью являются В-лимфоциты, несущие IgM. Установлено, что при бурсаэктомии нарушается репликация вируса и формирование поражений [8]. Вирус репродуцируется в макрофагах селезенки, эпителиальных клетках слизистой оболочки кишечника, эндотелии кровеносных сосудов. В результате воздействия вируса на эндотелий повышается проницаемость кровеносных сосудов, что приводит к геморрагическому диатезу. Нарушение гемодинамики в сосудах микроциркуляторного русла сопровождается развитием дистрофических и воспалительных изменений в различных органах.

Во время острой фазы инфекции вирус реплицируется в больших количествах, что приводит к притоку CD4+ Т-клеток и макрофагов в белую пульпу селезенки, вызывая ее гиперплазию. После активации макрофаги продуцируют цитокины, действие которых направлено на подавление репликации вируса. Репликация TAdV-3 вызывает гибель клеток и, как следствие, истощение популяции В-лимфоцитов. В совокупности с опосредованным цитокинами опоптозом клеток-свидетелей, возникает временная иммуносупрессия. В результате во время острой фазы инфекции TAdV-3 происходит временное ингибирование реакций антител на различные антигены. Возникающая иммуносупрессия повышает восприимчивость индеек к бактериальным (обычно *Escherichia coli* и *Ornithobacterium rhinotracheale*) и вирусным инфекциям [2,8].

Поражения легких, связанные с БМС и АСК, вероятно, являются иммуноопосредованными. Предположительно эпителиальный некроз возникает не в результате прямого воздействия возбудителя, а из-за недостатка кровоснабжения. Есть мнение, что кишечные кровотечения у индеек, инфицированных ВГЭИ и отек легких у птиц, пораженных вирусом БМС, могут быть результатом анафилактоидной реакции [12]. Как вирулентные, так и авирулентные штаммы TAdV-3, вызывают транзиторную иммуносупрессию. TAdV-3, независимо от вирулентности, или в сочетании с другими патогенами провоцирует у индеек возникновение вторичных инфекций, обусловленных *E. coli* [12], *Cl. Perfringens* [1], или ассоциированных инфекций с парамиксовирусом 2 серотипа, *Chlamydia psittaci* [4], *Eimeria meleagridis* [13].

Эпизоотологические данные. В полевых условиях к ГЭИ восприимчивы в основном индюшата в возрасте 4–6

недель, тогда как болезнь чаще всего развивается у птиц в возрасте 6–11 недель [8]. Серонегативные индюшата восприимчивы к инфекции в раннем возрасте, но устойчивы к образованию повреждений в кишечнике. Предположительно, для развития болезни в острой форме необходимо созревание клеток-мишеней [4]. Вирус ГЭИ также поражает золотых фазанов и павлинов, но не сопровождается смертностью. БМС при естественном заражении встречается у фазанов в возрасте 3–8 месяцев. Фазанята моложе 4-х недель менее восприимчивы к инфекции либо из-за материнских антител, либо из-за недостаточного количества зрелых клеток-мишеней [8].

Основной путь передачи TAdV-3 - фекально-оральный. Вирусы БМС и АСК, предположительно, передаются также фекально-оральным путем. Однако, наличие при данных инфекциях поражений респираторного тракта, предполагает и аэрогенный путь передачи [12]. Инкубационный период составляет 5–6 дней при орально-фекальном заражении вирусом ГЭИ (при заражении возбудителями БМС у фазанов и АСК, инкубационный период, вероятно, имеет такую же продолжительность) [8].

Вирус остается жизнеспособным в течение нескольких недель в тушках, защищенных от высыхания, или во влажном помете и подстилке. Болезнь часто повторяется в инфицированных помещениях. Переболевшая птица может оставаться носителем вируса и, как следствие, болезнь приобретает стационарный характер. Трансовариальная передача возбудителя не установлена.

Клинические признаки. Геморрагический энтерит индеек обычно протекает бессимптомно. Однако, в случае заражения высоковирулентными штаммами, болезнь протекает с выраженными клиническими признаками и сопровождается депрессией, желудочно-кишечными кровотечениями и смертностью, достигающей 80%. Продолжительность болезни обычно составляет 7-10 дней, но при возникновении вторичных бактериальных инфекций, продолжительность болезни может увеличиться на 2-3 недели.

В полевых условиях заболеваемость при ГЭИ может достигать 100%, а смертность от вирулентного вируса может варьировать от 1% до 60% (в среднем 10-15%) [1]. Заболеваемость, связанная с БМС и АСК, также может достигать 100%. Смертность фазанов при БМС составляет в среднем 2–3%, но может достигать 5–20% в течение 2–3 недель. У взрослых кур при АСК смертность может доходить до 8-9% [8].

ГЭИ характеризуется быстрым нарастанием в течение 24 часов клинических признаков (депрессия, кровавый помет и гибель). Индейки с клиническими признаками либо гибнут в течение 24 часов, либо выздоравливают [8]. Выжившие птицы, находясь в иммунодепрессивном состоянии, восприимчивы к вторичным инфекциям, с которыми связан второй пик смертности. Перья вокруг клоаки загрязнены пометом, содержащим темную кровь. Признаки болезни при естественном заражении обычно исчезают через 6–10 дней после появления кровавого помета [4].

У фазанов при острой форме БМС отмечается угнетение, слабость, одышка, выделения из носа и гибель [4]. Для данной инфекции характерен внезапный падеж птицы в возрасте 2-8 месяцев от асфиксии, возникающей в результате острого отека легких. При АСК у кур наблюдаются сходные признаки с признаками при БМС фазанов, но обычно течение болезни менее тяжелое [8].

Патоморфологические изменения. Павшие индейки при заражении вирулентным TAdV-3 бледные из-за потери крови. Как правило, в зобе находят корм, тонкий кишечник обычно растянут, бледный, заполнен кровянистым содержимым. Слизистая оболочка кишечника с признаками застоя, в некоторых случаях покрыта фибринозно-некротическими массами желтого цвета. Поражения наиболее выражены в двенадцатиперстной кишке, но могут распространяться на другие отделы кишечника. Селезенка у трупов обычно

уменьшена в размере в связи с ответной реакцией на потерю крови (при инфицировании селезенка увеличивается в размерах, становится рыхлой, приобретает пятнистый вид). Легкие могут быть в состоянии застоя, другие органы - бледные. Среди патологоанатомических признаков могут быть выявлены гепатомегалия и петехиальные кровоизлияния в различных тканях [8].

По результатам исследований во ВНИВИП при инфицировании 7-недельных индюшат изолятом вируса ГЭИ наблюдались такие патологоанатомические признаки как спленомегалия и мраморность селезенки, бледность печени и поджелудочной железы, поражение 12-перстной кишки (рисунок 1а, б, в).

Рисунок 1 – Органы индюшат после заражения изолятом вируса ГЭИ: а) спленомегалия и мраморность селезенки; б) гепатит; в) бледность поджелудочной железы и поражения в двенадцатиперстной кишке.

Поражения, при инфицировании вирусом БМС у фазанов, характеризуются увеличением, пятнистостью (мраморностью) селезенки и отечными застойными легкими. Кишечные кровотечения отсутствуют. У бройлеров, инфицированных вирусом АСК, поражения имеют сходство с поражениями при БМС [8].

Патоморфологические поражения селезенки представлены гиперплазией белой пульпы и лимфоидным некрозом. Внутри макрофагов и лимфоцитов можно обнаружить базофильные внутриядерные включения [11]. Типичные поражения кишечника включают застой в слизистой оболочке, наличие кровоизлияний на кончиках ворсинок и некроз эпителиальных клеток [8].

Поражения селезенки при инфицировании вирусами БМС и АСК подобны поражениям, вызываемым вирусом ГЭИ. При этом поражения кишечника отсутствуют. При естественном заражении вирусами БМС и АСК наблюдается сосудистый застой в легких, а также заполнение легочных альвеол и третичных бронхов фибрином и эритроцитами [4,8]. При БМС селезенка при вскрытии увеличена в 2-4 раза. На ее поверхности находят многочисленные некротические очаги, придающие органу мраморный вид. Отмечены также увеличение печени, геморрагический энтерит, геморрагии в нижней части пищевода, изменение цвета (обесцвечивание) и консистенции почек и костного мозга. Гистологически обнаруживают, что гиперплазированная селезенка и некротические очаги состоят из белой пульпы, содержащей амилоид. Скопление амилоида наблюдается также в легких и почках. В ретикулярных клетках обнаруживали внутриядерные тельца-включения эозинофильной и базофильной окраски, которые при электронной микроскопии идентифицируются как скопления аденовирусных частиц.

Иммунитет. Индейки после переболевания ГЭИ устойчивы к повторному заражению. Иммунитет, не является штаммоспецифическим, так как после заражения штаммами, которые вызывают низкую смертность формируется иммунитет, который является достаточным против штаммов, вызывающих высокую смертность [4].

Антитела к TAdV-3 в ИФА обнаруживают уже на 3 день после инфицирования. Пожизненный иммунитет, предположительно, является результатом персистирующей инфекции, поскольку вирусную ДНК можно обнаружить в тканях через 70 дней после инфицирования несмотря на высокие уровни циркулирующих антител. Роль клеточного иммунитета до конца не изучена [4].

У фазанов, инфицированных вирусом БМС, в отличие от индеек, наблюдалось усиленное образование селезеночных поражений и репликация вируса [8].

Материнские антитела обеспечивают защиту от клинического проявления ГЭИ до 6-недельного возраста и могут препятствовать вакцинации до 5-недельного возраста [4].

Диагностика. Наибольшая концентрация вируса выявляется в кровавом содержимом кишечника, в селезенке индеек или в селезенке инфицированных кур и фазанов [8]. Вирус геморрагического энтерита индеек успешно культивируется в культуре лейкоцитов крови индеек. Для выделения возбудителя используют содержимое кишечника и селезёнку больной или павшей птицы. Вирус не реплицируется в эмбрионах домашних птиц (индеек, кур, фазанов, уток, гусей). Его обычно выделяют на индюшатах, которых заражают в клоаку, орально или внутривенно. TAdV-3 можно культивировать на индейках, в возрасте 6 недель или старше, путем инокуляции кишечного содержимого или селезеночных гомогенатов. Для выделения и культивирования вируса также используют клеточные линии опухолей индюков MDTS RP19, в индюшиных клетках, полученных из лимфобластов типа В, взятых из опухоли, индуцированной вирусом болезни Марека. В настоящее время предпочтительными методами выделения и идентификации возбудителя ГЭИ являются молекулярно-генетические методы [4].

Идентифицировать ГЭИ, БМС и АСК можно с помощью теста иммунодиффузии в агаровом геле. Вирусный антиген может быть идентифицирован в замороженных или фиксированных формалином тканях с использованием методов иммунофлуоресцентного или иммунопероксидазного окрашивания [8].

Можно использовать такие методы обнаружения, как ИФА и гибридизацию ДНК in situ [8]. Разработаны ПЦР-тесты стандартные и в реальном времени для обнаружения вирусной ДНК в свежих или замороженных тканях [14]. В настоящее время методы ПЦР диагностики позволяют детектировать общие для аденовирусов птицы фрагменты ДНК и не предназначены для дифференциации вакцинных и патогенных штаммов вируса ГЭИ. Серологически неразличимые штаммы TAdV-3 имеют различные уровни патогенности, что связывают с мутациями в доменах волоконных головок, отвечающих за взаимодействие с рецепторами клетки-реципиента и, следовательно, определяющими тропизм и вирулентность вируса [15]. Капсид аденовируса состоит из трех основных структурных белков: гексона, основы пентона и волокна. Большая часть поверхности капсида приходится на 240 тримерных гексоновых капсомеров, в то время как каждая из 12 вершин занята пентамерным пентонным основанием. Белки тримерного волокна выступают из оснований пентона. В каждой вершине имеется одно волокно, которое является основным структурным фактором и отвечает за патогенез вирусной инфекции [16]. Предполагается, что анализ структуры детерминирующих волокно доменов позволит выявить генетические детерминанты, на основании которых, возможно будет идентифицировать вакцинные и полевые штаммы вируса ГЭИ [17]. Для дифференциации вакцинных и вирулентных полевых штаммов также можно использовать секвенирование. Однако различия на уровне нуклеиновых кислот незначительны, поэтому при секвенировании следует использовать не только последовательности гексонового белка.

ПЦР в реальном времени также может использоваться для титрования живых вакцин, содержащих TAdV-3 [18]. Для

обнаружения антител к вирусу БМС или возбудителю АСК коммерческие наборы не разработаны [4].

Дифференциальная диагностика. ГЭИ индеек с такими признаками как увеличенная пятнистая селезенка без признаков обнаружения TAdV-3 или кишечного кровотечения, необходимо дифференцировать от ретикулоэндотелиоза (лимфидной неоплазии) или лимфопролиферативного заболевания (лимфомы). Увеличенные, застойные селезенки у индеек часто являются результатом бактериемии, связанной с такими микроорганизмами, как *E. coli, Salmonella spp., Pasteurella multocida* и *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Обычно данные инфекции сопровождаются характерными для них признаками. Желудочно-кишечное кровотечение и гиперемия слизистой оболочки могут быть связаны с острыми вирусными (высокопатогенный грипп птиц, ньюкаслская болезнь), бактериальными (эндотоксемия, кишечная аутоинтоксикация, вызванная непроходимостью кишечника), паразитарными (кокцидиоз) инфекциями или токсическими (тяжелые металлы, сульфаниламидные препараты) состояниями. Необходимо также учитывать, что кровоизлияния и отторжение эпителия слизистой оболочки кишечника также наблюдается в результате быстрого посмертного аутолиза кишечного тракта.

Острый респираторный дистресс у фазанов и кур, но без увеличенных пятнистых селезенок, следует дифференцировать от других респираторных болезней, включая грипп птиц, ньюкаслскую болезнь, заражение *Syngamus trachea*, и, в случае кур, от инфекционного ларинготрахеита и инфекционного бронхита. Респираторные признаки с увеличением и застоем селезенки также могут быть признаками бактериальных инфекций, вызванных *E. coli, Salmonella spp*. и *Pasteurella multocida*. Также следует дифференцировать от отравления окисью углерода, углекислым газом, удушья.

Увеличение и пятнистость селезенки без проявления БМС или АСК следует дифференцировать от неопластических болезней, таких как болезнь Марека, лимфоидный лейкоз или ретикулоэндотелиоз. Патологический материал от взрослых кур с гепатомегалией и/или спленомегалией без пятнистости следует проверить на наличие вируса гепатита Е [1,4].

Профилактика. Важную роль в профилактике и контроле ГЭИ играет проведение мероприятий по обеспечению биобезопасности хозяйства: своевременное и качественное выполнение ветеринарно-санитарных, лечебно-профилактических и противоэпизоотических мероприятий, соблюдение технологии выращивания, зоогигиенических параметров микроклимата, кормление птицы качественными и безопасными кормами. При проведении дезинфекции рекомендуется выбирать средства, содержащие в своем составе четвертичные аммониевые соединения, не обладающие коррозийными свойствами и резким запахом, эффективные в отношении патогенов различной этиологии, в широком диапазоне температур, с пролонгированным дезинфицирующим эффектом. Повышает эффективность дезинфекции просушка и прогрев птицеводческих помещений. Для дезинфекции также можно использовать хлорсодержащие препараты и препараты из группы фенолов, в соответствии с инструкцией по применению.

При размещении на одной площадке разновозрастных групп птицы наиболее эффективным средством контроля и профилактики болезни является вакцинация.

Штаммы вируса ГЭИ и БМС обладают перекрестной защитой, то есть штаммы вируса БМС, которые являются вирулентными для фазанов, используются для вакцинации индеек, а штаммы вируса ГЭИ, которые являются вирулентными для индеек, могут использоваться для вакцинации фазанов [8].

Для специфической профилактики используют живые вакцины.

Вакцина Диндораль (Dindoral) против геморрагического энтерита индеек и мраморной болезни селезенки фазанов живая лиофилизированная (штамм «Domermuth»). Производитель: компания

«Merial» (Франция). Индюшат-бройлеров вакцинируют в возрасте 4-х недель, фазанов в возрасте 8 недель однократно с питьевой водой. Вакцина вызывает формирование иммунного ответа через 7 суток после применения, который сохраняется в течение 7 недель. Применение вакцины вызывает почти немедленную защиту, и при введении в условиях вспышки может остановить развитие молниеносной формы болезни.

Вакцина Г.Е.ВАК (H.E.VAC) против геморрагического энтерита индеек. Вакцина изготовлена из апатогенного аденовируса фазанов II типа (штамм «MSDV RP19»). Производитель вакцины: компания «ARKO LABORATORIES LTD» (США). Вакцинации подлежат индейки в возрасте 4-5 недель, у которых после однократного применения формируется иммунный ответ, который сохраняется в течение 12 месяцев.

Вакцина ADENOMUNE™ II содержит в лиофилизированной форме аттенуированный вирус геморрагического энтерита индеек. Производитель компания Ceva Santé Animale (Франция). Вакцину применяют индейкам в возрасте 5 недель и старше методом выпаивания.

В мире разработаны очищенная гексоновая субъединичная вакцина и рекомбинантная фибриллярная субъединичная вакцина, последняя доступна в продаже в странах, где не разрешены к применению живые вакцины. В некоторых странах доступны только инактивированные (i) TAdV-3-вакцины. Инактивированные вакцины iTAdV-3 при одно- или двукратном применении не обеспечивают достаточной защиты от заражения циркулирующими штаммами, возможно, из-за слабого иммунного ответа [4].

Установлено наличие антигенного дрейфа у циркулирующих полевых штаммов, выделенных из стад индеек, вакцинированных TAdV-3, что предполагает уклонение от вакцинного иммунитета [19].

Живые авирулентные вводимые с водой вакцины также эффективны для контроля БМС фазанов [8]. Вакцины от АСК не разработаны из-за спорадической, субклинической природы болезни [4].

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

С развитием индейководства в Российской Федерации геморрагический энтерит индеек приобретает все большую актуальность. Геморрагический энтерит индеек и связанные с ним инфекции (болезнь мраморной селезенки фазанов, аденовирусная спленомегалия кур) недостаточно изучены. Средства специфической профилактики и серологической диагностики в России практически не разработаны. В связи с этим дальнейшее изучение данной болезни разработка средств диагностики и специфической профилактики является перспективным и важным направлением исследований.

HEMORRHAGIC ENTERITIS JF TURKEYS AND RELATED INFECTIONS (LITERATURE REVIEW)

Dmitrieva M.E.* – Candidate of Veterinary Sciences, Scientific Secretary (ORCID 0000-0001-6433-7401); **Dubovoy A.S.** – Senior Researcher at the Department of Virology (ORCID 0000-0002-2855-5505); **Samuseva G.N. –** Senior Researcher at the Department of Virology **(**ORCID 0000-0002-5341-3664); **Bochkarev V.S.** – Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher at the Department of Virology (ORCID 0000-0003-4530-0608); **Kraskov D.A. –** Junior Researcher at the Department of Virology **(**ORCID 0000-0002-2362-2641)

«All-Russian Research Veterinary Institute of Poultry Science» — Branch of the Federal State Budget Scientific Institution Federal Scientific Center “All-Russian Research and Technological Poultry Institute»

** Dmitrieva1377@yandex.ru*

Financing: *The work was carried out by the All-Russian Research Veterinary Institute of Poultry Farming within the framework of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (state registration number of R&D 125041505203-4)*

ABSTRACT

In the conditions of intensive development of turkey farming, the range of relevant infectious diseases is also expanding, timely diagnostics and prevention of which prevents significant economic losses of poultry farms. Hemorrhagic enteritis of turkeys is an acute highly contagious viral disease of turkeys and pheasants, characterized by gastrointestinal bleeding, necrosis of the spleen, diarrhea and sudden death. The virus of hemorrhagic enteritis of turkeys, in addition, causes immunodepression, which increases the susceptibility of turkeys to bacterial (*Escherichia coli*, *Ornithobacterium rhinotracheale*) and viral infections, which also leads to economic damage. Literary sources were reviewed in Russian and international citation databases using keywords related to hemorrhagic enteritis in turkeys, marbled spleen disease, and adenovirus splenomegaly in chickens. The review included research published between 1993 and 2020, as well as information from a 1937 article that first reported data on hemorrhagic enteritis in turkeys. In the Russian Federation, hemorrhagic enteritis of turkeys and related infections are poorly studied, and specific preventive measures have not been developed. Information on the biological properties of pathogens, epizootological features of the course of hemorrhagic enteritis in turkeys and related infections, diagnostic methods and specific prevention methods will help veterinary specialists in ensuring epizootological well-being for these infections. The effectiveness of measures when the disease occurs depends on timely diagnosis. The correctness of sampling pathological material that must be sent to the laboratory for isolation and identification of the pathogen directly affects the speed of research and their reliability. The purpose of this article was to present modern information on hemorrhagic enteritis in turkeys and related infections, such as marbled spleen disease in pheasants and adenovirus splenomegaly in chickens.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Dhama, K. Haemorrhagic enteritis of turkeys – current knowledge / K. Dhama, V. Gowthaman, K. Karthik, R. Tiwari, [et al.] // Vet Quart. - 2017. – N. 37. – P. 31–42. DOI: http://dx.doi.org/10.1080/01652176.2016.1277281

2. Tykałowski, B. The immune response of young turkeys to haemorrhagic enteritis virus infection at different levels and sources of methionine in the diet / B. Tykałowski, M. Śmiałek, A. Koncicki, K. Ognik, [et al.] // BMC Veterinary Research. – 2019. – N 15 (1). – P. 387-398. https://doi.org/10.1186/s12917-019-2138-8

3. Pomeroy, B.S., and R. Fenstermacher. 1937. Hemorrhagic enteritis in turkeys. Poylt. Sci. 16:378-382.

4. Fitzgerald S. D., Rautenschlein S., Mahsoub H. M., Pierson F. W., Reed W. M., Jack S. W. Adenovirus Infections. In: Diseases of Poultry. Eds. D. E. Swayne, M. Boulianne, C. M. Logue, L. R. McDougald, V. Nair, D. L. Suarez, et al. 14th ed. Hoboken: Wiley-Blackwell; 2020; 321-363. https://doi.org/10.1002/9781119371199.ch9

5. Kumar, P., J. van den Hurk, L.E. Ayalew, A. Gaba, and S.K. Tikoo. 2015. Proteomic analysis of purified turkey adenovirus 3 virions. Vet Res. 46:79.

6. Ballmann, M.Z., and B. Harrach. 2016. Detection and partial genetic characterisation of novel avi- and siadenoviruses in racing and fancy pigeons (Columba livia domestica). Act Vet Hung. 64:514–528.

7. Davison, A.J., and B. Harrach. 2012. Siadenovirus. In: The Springer Index of Viruses, Part 1. C.A. Tidona and G. Darai, eds. Springer-Verlag, Berlin, Germany. 49–56.

8. Pierson, F.W., and S.D. Fitzgerald. 2013. Hemorrhagic enteritis and related infections. In: Diseases of Poultry, 13th ed. D.E. Swayne, J.R. Glisson, L.R. McDougald, L.K. Nolan, D.L. Suarez and V. Nair, eds. Wiley- Blackwell, Ames, Iowa; USA. 309–331.

9. Beach, N.M., R.B. Duncan, C.T. Larsen, X.-J. Meng, N. Sriranganathan, and F.W. Pierson. 2009. Comparison of 12 turkey hemorrhagic enteritis virus isolates allows prediction of genetic factors affecting virulence. J Gen Virol. 90:1978–1985.

10. Hussain, I., C.U. Choi, B.S. Rings, D.P. Shaw, and K.V. Nagaraja. 1993. Pathogene-

sis of hemorrhagic enteritis virus infection in turkeys. Zentralbl Veterinarmed B. 40:715–726.
11. Saunders, G.K., F.W. Pierson, and J.V. van den Hurk. 1993. Haemorhagic enteritis virus infection in turkeys: A comparison of virulent and avirulent virus infections, and a proposed pathogenesis. Avian Pathol. 22:47–58.
12. Pierson, F.W. 2016. Current thoughts on the pathogenesis of hemorrhagic enteritis (HE), HEassociated secondary bacterial infections, diagnosis, control, and prevention. In: 11th "Hafez" International Symposium on Turkey Diseases. H.M. Hafez, ed. Institute of Poultry Diseases, Free University Berlin, Berlin, Germany. 87–90.
13. Norton, R.A., J.K. Skeeles, and L.A. Newberry. 1993. Evaluation of the interaction of Eimeria meleagriditis with hemorrhagic enteritis virus or marble spleen disease virus in turkeys. Avian Dis. 37:290–294.
14. Shah, J.D., S.K. Scharber, and C.J. Cardona. 2013. Development and application of quantitative real-time PCR for the rapid detection of hemorrhagic enteritis virus in tissue samples. Avian Dis. 57:300–302.
15. Singh, A.K., Ballmann M.Z., Benkő M. [et all]. 2013. Crystallization of the C-terminal head domain of the fibre protein from a siadenovirus, turkey adenovirus 3. Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun. 69 (Pt 10): 1135 -1139.
16. San Martín, C. 2012. Latest Insights on Adenovirus Structure and Assembly. Viruses. 4(5): 847 – 877.
17. Лисицына, Н.В. Современное изучение аденовирусов геморрагического энтерита индеек, раннее выявление штаммов и их дифференциация / Н.В. Лисицына, Е.С. Красникова. - Материалы XIV-й Международной студенческой научной конференции «Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии». Ульяновск, 31 мая 2021г.- С. 96-100.
18. Mahsoub, H.M., N.P. Evans, N.M. Beach, L. Yuan, K. Zimmerman, and F.W. Pierson. 2017. Real-time PCR-based infectivity assay for the titration of turkey hemorrhagic enteritis virus, an adenovirus, in live vaccines. J Virol Methods. 239:42–49.
19. Alkie, T.N., R. Guenther, and S. Rautenschlein. 2017. Molecular characterization of hemorrhagic enteritis viruses (HEV) detected in HEV-vaccinated commercial turkey flocks in Germany. Avian Dis. 61:96–101.

REFERENCES

1. Dhama, K. Haemorrhagic enteritis of turkeys – current knowledge / K. Dhama, V. Gowthaman, K. Karthik, R. Tiwari, [et al.] // Vet Quart. - 2017. – N. 37. – P. 31–42. DOI: http://dx.doi.org/10.1080/01652176.2016.1277281
2. Tykałowski, B. The immune response of young turkeys to haemorrhagic enteritis virus infection at different levels and sources of methionine in the diet / B. Tykałowski, M. Śmiałek, A. Koncicki, K. Ognik, [et al.] // BMC Veterinary Research. – 2019. – N 15 (1). – P. 387-398. https://doi.org/10.1186/s12917-019-2138-8
3. Pomeroy, B.S., and R. Fenstermacher. 1937. Hemorrhagic enteritis in turkeys. Poylt. Sci. 16:378-382.
4. Fitzgerald S. D., Rautenschlein S., Mahsoub H. M., Pierson F. W., Reed W. M., Jack S. W. Adenovirus Infections. In: Diseases of Poultry. Eds. D. E. Swayne, M. Boulianne, C. M. Logue, L. R. McDougald, V. Nair, D. L. Suarez, et al. 14th ed. Hoboken: Wiley-Blackwell; 2020; 321-363. https://doi.org/10.1002/9781119371199.ch9
5. Kumar, P., J. van den Hurk, L.E. Ayalew, A. Gaba, and S.K. Tikoo. 2015. Proteomic analysis of purified turkey adenovirus 3 virions. Vet Res. 46:79.
6. Ballmann, M.Z., and B. Harrach. 2016. Detection and partial genetic characterisation of novel avi- and siadenoviruses in racing and fancy pigeons (Columba livia domestica). Act Vet Hung. 64:514–528.
7. Davison, A.J., and B. Harrach. 2012. Siadenovirus. In: The Springer Index of Viruses, Part 1. C.A. Tidona and G. Darai, eds. Springer-Verlag, Berlin, Germany. 49–56.
8. Pierson, F.W., and S.D. Fitzgerald. 2013. Hemorrhagic enteritis and related infections. In: Diseases of Poultry, 13th ed. D.E. Swayne, J.R. Glisson, L.R. McDougald, L.K. Nolan, D.L. Suarez and V. Nair, eds.

Wiley- Blackwell, Ames, Iowa; USA. 309–331.
9. Beach, N.M., R.B. Duncan, C.T. Larsen, X.-J. Meng, N. Sriranganathan, and F.W. Pierson. 2009. Comparison of 12 turkey hemorrhagic enteritis virus isolates allows prediction of genetic factors affecting virulence. J Gen Virol. 90:1978–1985.
10. Hussain, I., C.U. Choi, B.S. Rings, D.P. Shaw, and K.V. Nagaraja. 1993. Pathogenesis of hemorrhagic enteritis virus infection in turkeys. Zentralbl Veterinarmed B. 40:715–726.
11. Saunders, G.K., F.W. Pierson, and J.V. van den Hurk. 1993. Haemorhagic enteritis virus infection in turkeys: A comparison of virulent and avirulent virus infections, and a proposed pathogenesis. Avian Pathol. 22:47–58.
12. Pierson, F.W. 2016. Current thoughts on the pathogenesis of hemorrhagic enteritis (HE), HEassociated secondary bacterial infections, diagnosis, control, and prevention. In: 11th "Hafez" International Symposium on Turkey Diseases. H.M. Hafez, ed. Institute of Poultry Diseases, Free University Berlin, Berlin, Germany. 87–90.
13. Norton, R.A., J.K. Skeeles, and L.A. Newberry. 1993. Evaluation of the interaction of Eimeria meleagriditis with hemorrhagic enteritis virus or marble spleen disease virus in turkeys. Avian Dis. 37:290–294.
14. Shah, J.D., S.K. Scharber, and C.J. Cardona. 2013. Development and application of quantitative real-time PCR for the rapid detection of hemorrhagic enteritis virus in tissue samples. Avian Dis. 57:300–302.
15. Singh, A.K., Ballmann M.Z., Benkő M. [et all]. 2013. Crystallization of the C-terminal head domain of the fibre protein from a siadenovirus, turkey adenovirus 3. Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun. 69 (Pt 10): 1135 -1139.
16. San Martín, C. 2012. Latest Insights on Adenovirus Structure and Assembly. Viruses. 4(5): 847 – 877.
17. Lisitsyna, N.V. Modern Study of Adenoviruses of Turkey Hemorrhagic Enteritis, Early Detection of Strain and Their Differentiation / N.V. Lisitsyna, E.S. Krasnikova. - Materials of the XIV International Student Scientific Conference «Actual Problems of Infectious Pathology and Biotechnology». Ulyanovsk, May 31, 2021. - P. 96-100.
18. Mahsoub, H.M., N.P. Evans, N.M. Beach, L. Yuan, K. Zimmerman, and F.W. Pierson. 2017. Real-time PCR-based infectivity assay for the titration of turkey hemorrhagic enteritis virus, an adenovirus, in live vaccines. J Virol Methods. 239:42–49.
19. Alkie, T.N., R. Guenther, and S. Rautenschlein. 2017. Molecular characterization of hemorrhagic enteritis viruses (HEV) detected in HEV-vaccinated commercial turkey flocks in Germany. Avian Dis. 61:96–101.

УДК: 619:579.8+619:616.34:636.5
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.87

ВЛИЯНИЕ СИМБИОТИКА НА ЭНТЕРОМИКРОБИОЦЕНОЗ, БИОХИМИЧЕСКИЙ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ НА ФОНЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КОЛИБАКТЕРИОЗА

Лещёва Н.А.* – канд. ветеринар. наук, доцент, зав. каф. ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней (ORCID 0000-0001-6334-0422); **Плешакова В.И. –** д-р ветеринар. наук, проф., проф. каф. ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней (ORCID 0000-0001-7896-2339)

ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина»

**na.lescheva@omgau.org*

Ключевые слова: *цыплята, энтеробиоценоз, колибактериоз, антибиотик, симбиотик, биохимия, иммунология*

Key words: *chickens, enterobiocenosis, colibacteriosis, antibiotic, symbiotic, biochemistry, immunology*

Поступила: 07.04.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты исследования энтеробиоценоза, биохимических показателей сыворотки крови и иммунного ответа цыплят под влиянием симбиотического препарата Биосиб© ПРО при экспериментальном колибактериозе. Было сформировано четыре группы цыплят по 10 голов в каждой: I группа (группа положительного контроля), II группа (отрицательного контроля), содержалась на базовом рационе, III группа (экспериментальная симбиотическая) и IV группа (с использованием антибиотика). В возрасте 16 суток было проведено экспериментальное заражение патогенной культурой E. coli O78. Для изучения динамики энтеробиоценоза использовали бактериологические и протеомные (MALDI-TOF) методы исследования, гематологические, биохимические и иммуннобиологические тесты осуществляли согласно общепринятым методикам. В результате исследований было установлено, что применение симбиотика в экспериментальной группе цыплят способствовало прекращению клинических признаков болезни на 4 сутки, в то время как в группе, где применяли антибиотик, они продолжались в течение 5 суток. При изучении пристеночного энтеромикробиоценоза у цыплят -бройлеров экспериментальных групп после заражения культурой E. coli O78 в 72,4% случаев обнаруживали исходную культуру в группах I и IV, в то время как у птицы III группы E. coli O78 обнаруживали в 30% случаев. У цыплят-бройлеров I и IV экспериментальных групп после перорального введения E. coli существенно снижалось количество бифидобактерий и лактобактерий. В III группе видовой и количественный состав других представителей микробного сообщества тонкого кишечника существенно не из-

менялся. На фоне применения симбиотика у экспериментальных цыплят отмечали увеличение общего количества эритроцитов, гемоглобина, в сыворотке крови – повышение общего количества белка, альбуминов, бактерицидной, лизоцимной и фагоцитарной активности, а также увеличение живой массы по сравнению с птицей не получавший препарат.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Колибактериоз птиц, обусловленный патогенными штаммами Escherichia coli, наносит значительный экономический ущерб отечественной и мировой птицеводческой отрасли из-за высоких показателей заболеваемости и гибели птицы [1-3]. Как правило, профилактика и контроль колибактериоза достигаются путём использования различных антибиотических препаратов. В то же время, в последние несколько десятилетий резко обострилась проблема появления и быстрого распространения бактерий, в том числе Escherichia coli, устойчивых к антибиотикам, что существенно снижает эффективность антибиотических препаратов, а также представляет значительный риск для здоровья человека.

В связи, с чем предпринимаются попытки поиска альтернативных препаратов для профилактики и лечения колибактериоза сельскохозяйственной птицы, в том числе пробиотического происхождения [4-8]. Необходимо отметить, что активное использование пробиотиков началось на рубеже 70-х годов прошлого столетия. В настоящее время различные группы пробиотиков применяются в качестве терапевтических добавок для сельскохозяйственной птицы с целью снижения заболеваемости и гибели поголовья, улучшения поедаемости кормов, увеличения продуктивных показателей [9,10]. Обобщая имеющиеся данные научной литературы, можно выделить, два предполагаемых механизма, с помощью которых пробиотики могут воздействовать на патогенные и условно патогенные микроорганизмы [11-14]. Во-первых, это производство ингибирующих биологически активных соединений, во-вторых, прямое межклеточное взаимодействие. Кроме того, пробиотики повышают устойчивость к кишечным патогенам посредством конкурентной колонизации слизистой оболочки участков кишечника. Ряд авторов указывает на стимуляцию пробиотиками иммунной системы организма против патогенных микроорганизмов. Также было показано, что введение в рацион птицы симбиотиков увеличивает устойчивость к ряду возбудителей инфекционных болезней, снижает метаболитный стресс, усиливает секрецию Ig A слизистой оболочкой кишечника, что предотвращает связывание патогенов и токсинов с эпителиальными клетками (иммунная эксклюзия) [15,16].

В настоящее время среди пробиотических препаратов, применяемых в медицине и ветеринарии, всё чаще применяют комплексные пробиотические препараты или симбиотики [17]. Симбиотики (живущие вместе) представляют собой комбинации нескольких штаммов «полезных» микроорганизмов, которые синергично оказывают положительные эффекты на макроорганизм.

Целью исследований явилось - изучение влияния симбиотического препарата Биосиб©ПРО на клиническое течение, энтеробиоценоз, иммунологический статус цыплят-бройлеров при экспериментальном колибактериозе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Материалом для исследования служили цыплята-бройлеры кросса «Смена-9». Для проведения экспериментальных исследований по принципу аналогов было сформировано четыре группы по 10 голов в каждой группе.

Первой группе птицы (отрицательный контроль) в возрасте 16 суток было проведено экспериментальное заражение патогенной культурой Escherichia coli 078, полученной из патологического материала в Омской областной ветеринарной лаборатории. Суспензию бактериальной культуры вводили перорально в дозе 0,5 мл, содержащий 10^9 КОЕ/мл. Вторая

группа цыплят-бройлеров (положительный контроль) не заражалась и содержалась на базовом рационе согласно рекомендациям ФНЦ «ВНИИТиП» РАН [18]. Птице третьей группы (экспериментальная симбиотическая) с 10-ти суточного возраста вводили в рацион симбиотик Биосиб© ПРО, который представляет собой комплекс молочнокислых и пропионовокислых живых бактерий. Затем, в возрасте 16-ти суток птица данной группы была подвержена пероральному заражению патогенной культурой Escherichia coli 078 в дозе 0,5 мл, содержащий 10^9 КОЕ/мл. Цыплята-бройлеры четвёртой группы также в 16-ти суточном возрасте были перорально заражены патогенной культурой Escherichia coli 078. Птице этой группы с 18-ти суточного возраста выпаивали антибиотический препарат энроколистим, который по инструкции производителя является эффективным средством при инфекционной патологии желудочно-кишечного тракта птицы. Указанный антибиотик вводили в течение 5-ти суток. Длительность опыта составила 25 суток.

Экспериментальные группы цыплят находились под ежедневным клиническим наблюдении для учета клинических признаков, фиксации падежа, учета продуктивных показателей (живая масса цыплят-бройлеров).

Отбор крови, фекалий проводили на 1-7; 14 и 23 сутки с момента начала эксперимента. Для проведения бактериологических исследований использовали методические рекомендации «Методы исследования микрофлоры пищеварительного тракта сельскохозяйственных животных и птицы» под редакцией Б.В. Тараканова (1998), «Экспресс-диагностика энтеробактерий» Сухинин А.А. и др. (2004).

Для изучения динамики энтеробиоценоза у экспериментальной птицы также использовали протеомные (MALDI-TOF) исследования.

MALDI-TOF-MS анализ осуществляли с использованием суточных культур микроорганизмов (1-2 колонии). В качестве матрицы применяли альфациано-4 гидроксикоричную кислоту (Bruker Daltonics, ФРГ) в виде насыщенных растворов смеси 50% ацетонитрита и 2,5%-го раствора трифтороуксусной кислоты. Используемый набор реактивов соответствовал специальным требованиям для масс-спектрометрии. Масс-спектрометрический анализ осуществляли с помощью времяпролётного MALDI масс-спектометра Autoflex III (Bruker Daltonics, ФРГ). Для записи обработки и анализа масс-спектров использовали программное обеспечение MALDI Bio Typer версии 3.0. При значениях SCORE 1,6 и ниже видовую идентификацию считали недостоверной.

Гематологический анализ крови цыплят-бройлеров экспериментальных групп осуществляли на автоматическом гематологическом анализаторе «Mythic 18vet (Geneva, Швейцария). Биохимические показатели сыворотки крови птицы изучали на анализаторе Metrolab 1600 (UV-VIS Metrolab S.A., Аргентина) с использованием коммерческого набора Диавет-тест (РФ) с учётом методических рекомендаций [19]. Определение бактерицидной активности сыворотки крови (БАСК) определяли по Смирновой О.В. и др. [20]. Лизоцимную активность сыворотки крови (ЛАСК) по Дорофейчук Д.Г. [21].

Полученный в результате исследований цифровой материал обрабатывали с помощью программы Statistika [22]. При этом для описания массива данных, соответствующих нормальному распределению, использовали значение средней (M) и ошибки среднего (м), которые были выражены как M±м. При этом для сравнения показателей до и после экспериментального воздействия использовали t-критерий Стьюдента для зависимых выборок. При межгрупповых сравнениях использовали t-критерий Стьюдента для независимых выборок. Во всех сравниваемых случаях различия считались статистически значимыми при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Проведенные исследования показали, что у цыплят-бройлеров I, III и IV групп первые клинические признаки колибакте-

риозной инфекции появились на следующие сутки после заражения и протекали с разной степенью интенсивности в течение 8 суток. Основными признаками экспериментально моделированного колибактериоза были: угнетение, отказ от корма, жажда, диарея (таблица 1). Так у цыплят I группы выраженные клинические признаки инфекции отмечали на 2-е сутки после заражения, на 5-е сутки отмечали гибель трёх цыплят (30%), на 8-е сутки – еще одного цыплёнка (10%.).

Таблица 1 – Основные клинические симптомы и падёж в экспериментальных группах цыплят -бройлеров

Группы птиц	Клинические признаки				
	Угнетение	Отказ от корма	Жажда	Диарея	Гибель, %
I	+++	+++	+++	+++	40,0
II	-	-	-	-	0
III	++	++	++	++	0
IV	+++	++	+++	+++	10,0

Примечание: +++ - сильно выраженные симптомы;
++ - умеренно выраженные симптомы;
- - симптомы отсутствуют.

Таблица 2 – Динамика живой массы цыплят-бройлеров экспериментальных групп

Группы цыплят	1 сут.	10 сут.	16 сут.	25 сут.
I	60,01±2,15	208,3±18,6	421,3±11,2	532,3±12,4
II	61,4±2,35	205,1±10,3	500,3±9,6	973,4±10,3
III	61,3±2,95	206,1±8,6	519,9±18,3*	995,3±18,3*
IV	62,3±1,35	204,3±7,3	482,3±10,3	731,3±17,3

*Примечание: * - P < 0,05 по отношению ко II группе (положительный контроль).*

При патологоанатомическом вскрытии павших цыплят I группы были обнаружены следующие изменения: острый катаральный энтерит, увеличение селезёнки, единичные очаги некроза в печени, перитонит, в одном случае геморрагический артрит.

Цыплята II группы (положительный контроль) на протяжении всего эксперимента оставались без каких-либо видимых клинических симптомов, падеж не зафиксирован.

В III группе (экспериментальная симбиотическая) первые клинические симптомы инфекции появились на 2-е сутки после заражения. Необходимо отметить, что в отличие от цыплят I группы клинические симптомы отличались умеренным течением (таблица 1).

При диагностическом убое птицы III группы в желудочно-кишечном тракте наблюдали слабовыраженные патологоанатомические изменения характерные для энтерита. В печени каких-либо патологических изменений не установлено.

В IV группе (экспериментальная с антибиотиком) клинические признаки инфекции наблюдали также на 2-е сутки после заражения. У цыплят к выраженным симптомам относили: угнетение, жажду; к умеренно выраженным – отказ от корма, диарею (таблица 1). Результаты патологоанатомического вскрытия цыплят-бройлеров этой группы варьировали. Так, были цыплята без патологических изменений со стороны кишечного тракта

и печени, а также особи, у которых регистрировали незначительное катаральное воспаление кишечника и слабо выраженную застойную гиперемию в печени.

Установлено, что цыплята-бройлеры III группы, которым в основной рацион вводили симбиотический препарат, к моменту завершения эксперимента (25 суток) имели достоверно большую живую массу по сравнению с птицей других групп (таблица 2).

Проведенные бактериологические и протеомные исследования показали, что у цыплят I, III и IV групп (пероральное заражение) отмечали определенную модификацию фекального микробиоценоза. Так, в пробах фекалий цыплят-бройлеров в 100% случаев изолировали исходные культуры E. coli O78. Необходимо отметить, что у цыплят I и IV групп установлено снижение содержание индигенных микроорганизмов, в частности лактобактерий на 22,3%, энтерококков на 26,1%. В тоже время, удельное содержание стафилококков и энтеробактерий не изменялось.

У цыплят бройлеров III группы, которым вводили симбиотический препарат, через 7 суток после заражения в пробах фекалий культура E. coli O78 обнаруживалась в среднем на 70% реже по сравнению с I и IV группами.

Изучение пристеночного энтеромикробиоценоза у цыплят-бройлеров экспериментальных групп показало, что пероральное введение культур E. coli O78 приводило к появлению в пристеночном муцине тонкого кишечника исходной культуры в 72,4% пробах в I и IV группах. У птицы III группы E. coli O78 обнаруживалась лишь в 30% случаев. Кроме того, в этой группе видовой и количественный состав других представителей микробного сообщества пристеночного муцина тонкого кишечника не изменялся. Необходимо отметить, что у цыплят-бройлеров I и IV экспериментальных групп после заражения существенно снижалась частота обнаружения бифидобактерий в пристеночном муцине тонкого кишечника до 10,4%. Кроме того, зафиксировано снижение удельного содержания лактобактерий. В то же время, частота обнаружения и удельное содержание стафилококков и энтеробактерий существенно не изменялось.

Кроме того, анализ ряда иммунологических показателей, в частности количество Т и В-лимфоцитов в сыворотке крови может свидетельствовать о различных механизмах действия, применяемых в эксперименте симбиотика Биосиб© ПРО и антибиотика энтероколистим. Так, симбиотик Биосиб© ПРО активирует гуморальное звено иммунитета, в то время как антибиотик стимулирует клеточный иммунитет.

Таблица 3 – Гематологические и биохимические показатели цыплят-бройлеров (7-е сут. после заражения)

Показатели, ед. изменения	Группа птиц			
	I	II	III	IV
Эритроциты, $x10^{12}$ г/л	1,42±0,12	2,95±0,16	3,2±0,42*	2,62±0,51
Лейкоциты, тыс/мкл	27,41±1,12	23,65±0,90	26,27±1,56	23,04±0,85
Гемоглобин, г/л	96,4±3,12	114,3±4,05	124,38±5,06*	102,6±3,01
Общий белок, г/л	38,7±2,12	36,2±0,41	42,8±1,12*	37,1±2,16
Альбумин, г/л	14,3±0,8	15,7±1,1	18,8±0,9*	15,7±0,8
Глобулин, г/л	23,7±0,6	21,3±1,4	24,3±1,18	22,0±1,0

*Примечание: * $p<0,05$.*

Таблица 4 – Среднее значение показателей естественной резистентности цыплят-бройлеров экспериментальных групп (7-е сут. после заражения)

Показатели, ед. изменения	Группа птиц			
	I	II	III	IV
Т-лимфоциты, тыс/мкл	2,98±0,39	3,93±0,48	3,4±0,41	4,49±0,70*
В-лимфоциты, тыс/мкл	2,37±0,33	3,56±0,62	3,77±0,43	1,88±0,17
Цитотоксические Т-лимфоциты. тыс/мкл	2,42±0,21	4,29±0,55	4,96±0,55*	2,72±0,36
Спонтанный НСТ-тест, у.е.оп.пл	1,21±0,05	1,56±0,09	1,48±0,09	1,54±0,08
Стимулированный НСТ-тест, у.е.оп.пл	0,52±0,07	0,76 ±0,07	0,60±0,10	0,77±0,08*
Функциональный резерв нейтрофилов (КС)	1,16±0,22	1,06±0,12	1,10±0,11	1,08±0,10
БАСК, %	3,88±1,96	3,46±1,42	4,77±1,74*	3,59±1,48
ЛАСК, %	0,30±0,09	0,34±0,10	0,14±0,05	0,16±0,05

*Примечание: * $p<0,05$.*

Проведенные гематологические, биохимические и иммунологические исследования показали, что у цыплят-бройлеров, заражённых E. coli O78 и получавших симбиотический препарат (III группа) происходила активация обменных процессов и метаболизма белка, а также достоверное повышение показателей естественной резистентности организма птицы. Так установлено, что количество эритроцитов, уровень гемоглобина, содержание общего белка, концентрация альбуминов и глобулинов в крови цыплят III группы были выше по сравнению с птицей I, II и IV групп (таблицы 3,4).

Повышение количества эритроцитов в крови цыплят-бройлеров III группы, по нашему мнению, свидетельствует об усилении процессов кроветворения и связано, прежде всего, с высокой интенсивностью обменных процессов. Указанная тенденция подтверждается и увеличением среднесуточного прироста живой массы цыплят в сравнении с другими группами.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, проведённые комплексные исследования показали, что симбиотический препарат Биосиб® ПРО не только активизирует процессы эритропоэза и лейкоцитоза, стимулирует неспецифическую резистентность, но и влияет на энтеробиоценоз цыплят-бройлеров, подавляя адгезию энтропатогенной E. coli. Так, в крови цыплят-бройлеров, заражённых культурой E. coli O78, которым в основной рацион вводили симбиотический препарат, увеличилось общее количество эритроцитов, гемоглобина, в сыворотке крови - общее количество белка, альбуминов, бактерицидной, лизоцимной и фагоцитарной активности, также отмечено увеличение средней суточной живой массы цыплят и снижение гибели от колибактериоза.

INFLUENCE OF SYMBIOTIC ON ENTEROMICROBIOCENOSIS, BIOCHEMICAL AND IMMUNOLOGICAL STATUS OF BROILER CHICKENS AGAINST THE BACKGROUND OF EXPERIMENTAL COLIBACTERIOSIS

Lescheva N.A.* – PhD in veterinary

sciences, associate professor, head of the department of veterinary microbiology, infectious and invasive diseases (ORCID 0000 -0001-6334-0422); **Pleshakova V.I**. – dsc in veterinary sciences, professor, professor of the department of veterinary microbiology, infectious and invasive diseases (ORCID 0000-0001-7896-2339),

Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin

**na.lescheva@omgau.org*

ABSTRACT

The article presents the results of the study of enterobiocenosis, biochemical parameters of blood serum and immune response of chickens under the influence of the symbiotic drug Biosib© PRO in experimental colibacillosis. Four groups of chickens were formed with 10 heads in each: Group I (positive control group), Group II (negative control), kept on a basic diet, Group III (experimental symbiotic) and Group IV (using an antibiotic). At the age of 16 days, experimental infection with E. coli O78 culture was carried out. To study the dynamics of enterobiocenosis, bacteriological and proteomic (MALDI-TOF) research methods were used, hematological, biochemical and immunobiological tests were carried out according to generally accepted methods. The studies showed that the use of the symbiotic in the experimental group of chickens contributed to the cessation of clinical signs of the disease on the 4th day, while in the group where the antibiotic was used, they continued for 5 days. When studying the parietal enteromicrobiocenosis in broiler chickens of experimental groups after infection with the E. coli O78 culture, the original culture was detected in 72.4% of cases in groups I and IV, while in birds of group III, E. coli O78 was detected in 30% of cases. In broiler chickens of experimental groups, I and IV after oral administration of E. coli, the frequency of detection of bifidobacteria and lactobacilli significantly decreased. In group III, the species and quantitative composition of other representatives of the microbial community of the small intestine did not change significantly. Against the background of the use of the symbiotic, an increase in the total number of erythrocytes, hemoglobin, in the blood serum - an increase in the total amount of protein, albumin, bactericidal, lysozyme and phagocytic activity, as well as an increase in live weight compared to birds that did not receive the drug were noted in experimental chickens.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Shenderov BA. Probiotic (symbiotic) bacterial languages Anaerobe. 2011; 17 (6): 490 -495.

2.Новикова, О. Б. О проблеме колибактериоза в птицеводстве / О. Б. Новикова, М. А. Павлова, А. А. Бартенев // Эффективное животноводство. – 2018. – № 6(145). – С. 64-66. Режим доступа: https:// elibrary.ru/item.asp?id=35554711

3.Герасимова, А. О. Колибактериоз птиц - актуальные вопросы / А. О. Герасимова, О. Б. Новикова, А. А. Савичева // Ветеринария сегодня. – 2023. – Т. 12, № 4. – С. 284-292. – DOI 10.29326/2304-196X-2023-12-4-284-292. Режим доступа: https:// elibrary.ru/item.asp?id=59693275

4.Minelli E., Benini A. Relationship between number of bacteria and their probiotic effects. Microb Ecol Health Dis. 2008; (20): 180-3.

5.Yeoman Carl J., White, B. A. Gastrointestinal tract microbiota and probiotics in production animals. CJ Yeoman, BA White. Annu. Rev. Anim. Biosci. 2014; (2): 469-486.

6.Almada C.N., Martinez C. et al. Characterization of the intestinal microbiota and its interaction with probiotics and health impacts. Appl Microbiol Biotechnol. 2015; 99 (10): 4175-99.

7.Wang X., Zhang P., Zhang X. Probiotics regulate gut microbiota: an effective method to Improve Immunity. Molecules, 2021; 26 (19) : 60-76.

8.La Fata G., Weber P., Mohajeri H. Probiotics and the gut immune system: indirect regulation. Probiotics Antimicrob Proteins. 2018; 10 (1): 11-21.

9.Новикова, А. Ф. Влияние пробиотического биокомплекса "АВИБИОЛАКТ" на

микрофлору кишечника цыплят-бройлеров, зараженных возбудителем колибактериоза птиц / А. Ф. Новикова, Е. С. Овчарова, А. А. Савичева // Птицеводство. – 2022. – № 11. – С. 89-93. – DOI 10.33845/0033-3239-2022-71-11-89-93. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=49811443

10. Проккоева, Ж.А. Пробиотические штаммы и их консорциум для профилактики и лечения бактериальных заболеваний птиц / Ж.А. Проккоева, А.Ф. Новикова // Качественный рост российского агропромышленного комплекса: возможности, проблемы и перспективы: Мат. деловой программы 27-й междунар. агропром. выст. «Агрорусь-2018». - СПб: СПБГАУ, 2018. - С. 204-207.
11. Бабина, М.П. Иммунная реактивность цыплят - бройлеров в онтогенезе и ее коррекция микробными препаратами. - Витебск, 2002. - 114с.
12. Маркин, Ю. Разумная альтернатива антибиотикам. Пробиотики в рационах для птицы/ Ю. Маркин, Н. Нестеров// Животноводство России. – 2018. – № 2. – С. 8–11. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=32430939
13. Гиндуллин, А. И. Возможности применения пробиотиков на основе лактобактерий в птицеводстве / А. И. Гиндуллин // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2013. – Т. 215. – С. 74-77. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=20263009.
14. Подчалимов, М. И. Влияние пробиотиков в кормах на продуктивные и мясные качества цыплят-бройлеров / М. И. Подчалимов, Е. М. Грибанова, Л. А. Матюшевский // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. – 2013. – № 1(36). – С. 220-223. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=18970463
15. Roberfroid M., Gibson R.M., Hoyles L. et al. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. Br J. Nutr. 2010; 104 (l 2):61-63
16. Буяров, В. С. Эффективность применения синбиотика "ПроСтор" в птицеводстве / В. С. Буяров, С. Ю. Метасова // Ученые записки Казанского университета. Серия: Естественные науки. – 2019. – Т. 161, № 3. – С. 408-421. – DOI 10.26907/2542-064X.2019.3.408-421.Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=42446495.
17. Кудрявцева, А. В. Применение жидкой формы мультибактерина ветеринарного цыплятам-бройлерам / А. В. Кудрявцева, С. В. Щепеткина // Новые фармакологические средства в ветеринарии : Материалы XIV Международной межвузовской научно-практической конференции, Санкт-Петербург, 01 января – 31 2002 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2002. – С. 29-30.
18. Методическое пособие по кормлению сельскохозяйственной птицы / Министерство науки и высшего образования РФ, ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства»; разработчики: И.А. Егоров [и др.] - Сергиев Посад, 2021 – 359 с.
19. Методические рекомендации по применению наборов реагентов «ДиаВетТест» для биохимических исследований сыворотки (плазмы) крови животных на автоматических и полуавтоматических анализаторах. – М.: ФГБУ ЦНМВЛ, Россельхознадзор, 2018.- 25с.
20. Смирнова, О.В. Определение бактерицидной активности сыворотки крови методом фото нефелометрии / О.В. Смирнова, Т.А. Кузьмина // Ж. микробиология. - 1966. - № 4. - С. 8-11.
21. Дорофейчук, В.Г. Определение активности лизоцима нефелометрическим методом / В.Г. Дорофейчук // Лабораторное дело. -1968. - №1. - С. 28-30.
22. Мастицкий, С.Э. Методическое пособие по использованию программы STATISTICA при обработке данных биологических исследований/ Мастицкий С.Э.// Минск: РУП Институт рыбного хозяйства, 2009. - 76 с.

REFERENCES

1. Shenderov BA. Probiotic (symbiotic) bac-

terial languages Anaerobe. 2011; 17 (6): 490 -495.
2. Novikova OB, Pavlova MA, Bartenev AA On the problem of colibacillosis in poultry farming. Effective animal husbandry. 2018; 6 (145): 64-66. URL:https://elibrary.ru/item.asp?id=35554711 (In Russ.)
3. Gerasimova AO, Novikova OB, Savicheva AA. Colibacillosis of birds - current issues. Veterinary science today. 2023; 12(4): 284-292. DOI 10.29326/2304-196X-2023-12 -4-284-292. URL:https://elibrary.ru/item.asp?id=59693275(In Russ.)
4. Minelli E, Benini A. Relationship between number of bacteria and their probiotic effects. Microb Ecol Health Dis. 2008; (20): 180-3.
5.Yeoman Carl J, White BA. Gastrointestinal tract microbiota and probiotics in production animals. CJ Yeoman, BA White. Annu. Rev. Anim. Biosci. 2014; (2): 469-486.
6. Almada CN, Martinez C (eds.) Characterization of the intestinal microbiota and its interaction with probiotics and health impacts. Appl Microbiol Biotechnol. 2015; 99 (10): 4175-99.
7. Wang X, Zhang P, Zhang X. Probiotics regulate gut microbiota: an effective method to Improve Immunity. Molecules, 2021; 26 (19) : 60-76.
8. La Fata G, Weber P, Mohajeri H. Probiotics and the gut immune system: indirect regulation. Probiotics Antimicrob Proteins. 2018; 10 (1): 11-21.
9. Novikova A F, Ovcharova E S, Savicheva A A. The influence of the probiotic biocomplex "AVIBIOLAKT" on the intestinal microflora of broiler chickens infected with the causative agent of colibacillosis of birds. Poultry farming. 2022;(11):89-93. DOI 10.33845/0033-3239-2022-71-11-89-93. URL:https://elibrary.ru/item.asp?id=49811443 (In Russ.)
10. Prokkoeva Zh A, Novikova A F Probiotic strains and their consortium for the prevention and treatment of bacterial diseases of birds. Qualitative growth of the Russian agro-industrial complex: opportunities, problems and prospects: Proc. of the business program of the 27th international. agro-industrial. exhibition "Agrorus-2018". SPb: SPbSAU; 2018. P. 204-207. (In Russ.)
11. Babina MP. Immune reactivity of broiler chickens in ontogenesis and its correction by microbial preparations. Vitebsk; 2002. 114p. (In Russ.)
12. Markin Yu A, Nesterov N. Reasonable alternative to antibiotics. Probiotics in diets for poultry. Animal Husbandry of Russia. 2018; (2); 8-11. URL:https://elibrary.ru/item.asp?id=32430939 (In Russ.)
13. Gindullin A. I. Possibilities of using probiotics based on lactobacilli in poultry farming. Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. 2013; 215: 74-77. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=20263009 (In Russ.)
14. Podchalimov MI, Gribanova EM., Matyushevsky LA. The influence of probiotics in feed on the productive and meat qualities of broiler chickens. Bulletin of the Voronezh State Agrarian University. 2013; 1 (36): 220-223. URL:https://elibrary.ru/item.asp?id=18970463 (In Russ.)
15. Roberfroid M, Gibson RM, Hoyles L. (eds.) Prebiotic effects: metabolic and health benefits. Br J. Nutr. 2010; 104 (l 2):61-63
16. Buyarov V. S. Metasova S. Yu. Efficiency of using the synbiotic "ProStor" in poultry farming. Scientific notes of Kazan University. Series: Natural sciences. 2019:161(3):408 -421. DOI 10.26907/2542-064X.2019.3.408-421. URL:https://elibrary.ru/item.asp?id=42446495. (In Russ.)
17. Kudryavtseva AV, Shchepetkina SV. Use of liquid form of veterinary multibacterin to broiler chickens New pharmacological agents in veterinary medicine: Proceedings of the XIV International Interuniversity Scientific and Practical Conference, St. Petersburg, January 01 – 31, 2002. – St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine; 2002. P. 29-30. (In Russ.)
18. Methodological guide to feeding agricultural poultry / Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Federal Scientific Center "All-Russian Research and Technological Institute of Poultry Farming"; developers: I.A. Egorov [et al.] - Sergiev Posad, 2021. 359 p. (In Russ.)

19. Methodological guide for the use of DiaVetTest reagent kits for biochemical studies of animal blood serum (plasma) using automatic and semiautomatic analyzers. – Moscow: Federal State Budgetary Institution Central Medical and Veterinary Laboratory, Rosselkhoznadzor, 2018. 25 p. (In Russ.)
20. Smirnova, O.V. Determination of bactericidal activity of blood serum by photonephelometry / O.V. Smirnova, T.A. Kuzmina // J. Microbiology.1966; 4: 8-11 (In Russ.)
21. Dorofeychuk, V.G. Determination of lysozyme activity by nephelometric method / V.G. Dorofeychuk // Laboratory work. 1968; 1: 28-30 (In Russ.)
22. Mastitsky, S.E. Methodological manual for using the STATISTICA program in processing biological research data / Mastitsky S.E. // Minsk: RUP Institute of Fisheries, 2009. 76 p. (In Russ.)

УДК: 619:578.831.31:615.371
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.97

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СПОСОБА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ РЕСПИРАТОРНО-СИНЦИТИАЛЬНОГО ВИРУСА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЙ ТЕЛЯТ

Тарасова Е.Ю.[1]* – канд. биол. наук, зав. лабораторией ветеринарной санитарии, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-9056-5798); **Хаммадов Н.И**.[1,2] – канд. биол. наук, зав. лабораторией молекулярно-генетического анализа, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-5669-1486); **Ефимова М.А.**[1,2] – д-р биол. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-8786-1310); **Кашеваров Г.С.**[1] – канд. биол. наук, зав. лабораторией морфологических исследований, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-4520-7596); **Каримуллина И.Г.**[1] **–** канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-6771-3457); **Калимуллин Ф.Х.**[1] – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-2468-3163); **Быкова П.В.**[1] – мл. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-3636-0633)

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

* evgenechka1885@gmail.com

Ключевые слова: *перевиваемые линии культур клеток, респираторно-синцитиальный вирус, вакцина, телята, инфекционный титр, репликация, количественная полимеразная цепная реакция*

Keywords: *continuous cell culture lines, respiratory syncytial virus, vaccine, calves, infectious titer, replication, quantitative polymerase chain reaction*

Поступила:15.07.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Целью работы являлось изучение особенностей культивирования и определения инфекционной активности штамма респираторно-синцитиального вируса «РБ23» для дальнейшего создания живой аттенуированной импортозамещающей вакцины против ИРТ, ПГ-3 и РСВ для назальной иммунизации новорожденных телят. Качество репликации на клеточных линиях проводили путем оценки инфекционных титров по прямому цитопатическому действию вируса на клетки млекопитающих, а также использовали метод окрашенных фокусов. Методом количественной ПЦР определена степень репликации РСВ на культуре клеток ЛЭК в зависимости от сроков культивирования. Показано, что клетки ЛЭК и Т-1 являются пермессивными для РСВ. При этом чувствительность клеток ЛЭК превышала чувствительность клеток Т-1 на 1,96, 1,88 и 7,69 % соответственно, в трех последовательных пассажах. Смена среды МЕМ с добавлением глутамина при культивировании РСВ на 4 сутки способствовала усилению репликативной активности на 8,6 % по сравнению с флаконами, в кото-

рых смена среды не проводилась. Отмечено также, что оптимальным сроком культивирования РСВ является срок семь суток, дальнейшее культивирование приводит к деградации внеклеточных вирусных частиц, что снижает концентрацию вирионов на 26,5-40,0 %. Наработана биомасса РСВ «РБ23» для дальнейшего создания живой аттенуированной импортозамещающей вакцины против ИРТ, ПГ-3 и РСВ для назальной иммунизации новорожденных телят с инфекционным титром РСВ – 4,75±0,18 lg ТЦД $_{50}$/см^3, титром по ФОЕ – 1,5х10^6 ФОЕ/см^3 и количеством вирионов в вируссодержащей суспензии не ниже 4,5±0,20 млн. копий/мл.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Массовые респираторные заболевания новорожденных телят с симптомами конъюнктивита, поражения верхних и нижних дыхательных путей представляют наиболее серьезную проблему для скотоводства многих сельхозпредприятий Российской Федерации [1-3]. К основным вирусным патогенам относят вирус инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота (ИРТ), вирус парагриппа крупного рогатого скота-3 (ПГ-3) и респираторно-синцитиальный вирус крупного рогатого скота (РСВ) [4, 5].

Респираторно-синцитиальный вирус крупного рогатого скота является повсеместно распространенным и важным респираторным патогеном крупного рогатого скота, который может вызывать тяжелое заболевание у животных всех возрастов, но в первую очередь поражает молодых телят во время повторяющихся сезонных вспышек. Клинически заболевание характеризуется лихорадкой, кашлем и тахипноэ, часто быстро прогрессирующими до одышки. РСВ считается одним из предрасполагающих факторов, приводящих к вторичному заражению и эпизоотиям пастереллеза крупного рогатого скота [2, 3, 6].

Вспышки респираторных заболеваний часто затрагивают телят в возрасте всего нескольких недель. Поэтому важно, чтобы вакцинация быстро индуцировала защиту от заболевания. Большинство телят в возрасте до 3 месяцев имеют циркулирующие материнские антитела, приобретенные через молозиво. Эти антитела не обеспечивают должной защиты от заболеваний, но могут влиять на эффективность системной вакцинации. При этом именно интраназальная вакцинация является методом, с помощью которого может быть быстро вызван иммунитет (обходя возможное влияние материнских антител). Установлено, что телята в возрасте от 3 до 8 дней способны формировать иммунный ответ слизистой оболочки, даже при наличии материнских антител.

Разработка живой аттенуированной импортозамещающей вакцины против ИРТ, ПГ-3 и РСВ для назальной иммунизации новорожденных телят имеет потенциальные преимущества по сравнению с традиционной парентеральной вакцинацией, являясь дополнительным инструментом для усиления защиты от респираторных инфекций путем стимуляции иммунного ответа слизистой оболочки. Многочисленные исследования продемонстрировали эффективность интраназальной вакцинации в условиях материнских антител после заражения вирусами респираторных инфекций. Респираторные заболевания крупного рогатого скота являются основной причиной смертности телят. В связи с этим важность ранней защиты новорожденных телят не вызывает сомнений [7, 8].

Многие исследователи отмечают трудности при культивировании РСВ, связанные с нерегулярным проявлением цитопатического действия (ЦПД), низким инфекционным титром, лабильностью вируса. Было отмечено, что пассирование различных штаммов РСВ крупного рогатого скота (КРС) даже в чувствительных культурах клеток не в каждом пассаже сопровождалось видимым ЦПД, поэтому цитопатическое действие РСВ в культуре клеток носит неперманентный характер, что и осложняет его культивирование. Поэтому при культивировании РСВ КРС в культурах клеток необходимо использовать и другие методы контроля его размножения, определения инфекционной

активности и его идентификации [9-11]. В связи с этим, целью работы являлось изучение особенностей культивирования и определения инфекционной активности штамма РСВ «РБ23» для дальнейшего создания живой аттенуированной импортозамещающей вакцины против ИРТ, ПГ-3 и РСВ для назальной иммунизации новорожденных телят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

При создании вакцинных препаратов большую роль играет выбор эффективных биологических моделей с целью получения высокоактивной биомассы вирусов. Поэтому на первом этапе работы для разработки технологии производства нами была изучена чувствительность различных перевиваемых линий культур клеток к аттенуированному штамму РСВ КРС «РБ23». Для репликации вируса использовались следующие перевиваемые линии культур клеток: ЛЭК (легкого эмбриона коровы), Т-1 (почки телят), МДБК (почки быка), ВНК-21/13 (почки новорожденного золотистого сирийского хомячка).

Наработка биомассы вируса осуществлялась на перевиваемых линиях культур клеток методами стационарного культивирования в стеклянных флаконах (матрасах) вместимостью 200 и 1500 см^3 с выходом вируссодержащей суспензии в объеме 20-30 см^3 и 120-150 см^3 соответственно.

Заражение штаммом РСВ КРС «РБ23» в дозе 0,1 lg ТЦД50/см^3 проводили на 80–90 % конфлюентном монослое клеток возрастом 24–48 часов. Перед инокуляцией промывали клетки фосфатно-солевым буфером (pH 7,4±0,1). С целью адсорбции вируса флаконы инкубировали при температуре 37±0,5 ºС в течение одного часа, встряхивая каждые 20–30 минут для перераспределения инокулята. Адсорбцию завершали добавлением среды Игла МЕМ (в которую предварительно вносили L-глутамин (ООО «ПанЭко», Россия) из расчета 146 мг на 450 мл среды). Инфицированные культуры клеток инкубировали при температуре 37±0,5 ºС, ежедневно просматривая под микроскопом на наличие характерных морфологических (цитопатических) изменений клеток. Культуры клеток, на которых происходило максимальное накопление вирусов, были использованы для накопления вируссодержащего материала.

Оценку качества репликации РСВ на клеточных линиях проводили путем определения инфекционных титров согласно общепринятой методике L. Reed и H. Muench [12] по прямому цитопатическому действию вируса на клетки и выражали в lg $ТЦД_{50}$/см^3 (50%-ная тканевая цитопатическая доза), а также использовали метод окрашенных фокусов по Calnek B.et al. [13] при этом титр вируса выражали в фокусобразующих единицах/мл (ФОЕ/мл). Для оценки титра в последовательных разведениях вируссодержащей суспензии подсчитывали предварительно окрашенные 0,5 %-ным раствором амидового черного на 0,5 % -ной уксусной кислоте фокусы в 8 флаконах, соответствующих одному и тому же разведению вируса без слияния фокусов (при условии, что число фокусов не превышает 100 и не менее 10). Величину титра определяли по следующей формуле:

$$T = \frac{a \times 2}{P},$$

где: Т – титр вируса в ФОЕ/см^3;

а – среднее количество фокусов во флаконе;

Р – показатель степени разведения вируссодержащего материала.

Также проведено количественное определение степени репликации РСВ на культуре клеток ЛЭК в зависимости от сроков культивирования. Для этого зараженные РСВ флаконы замораживали через 4; 7 и 10 суток после инокуляции. На 4 сутки в половине флаконов проводили смену питательной среды. Далее определяли содержание вируса с помощью ПЦР.

Нуклеотидные последовательности изолятов вируса РСВ определены путем поисковых запросов из базы данных GenBank ресурсов NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/). В результате множественного выравнивания нуклеотид-

ных последовательностей изолятов РСВ и дизайна олигонуклеотидов были разработаны праймеры и олигонуклеотидный зонд для амплификации консервативного локуса РСВ («RSV F» ataaccttgacatcactcgtcataacagc, «RSV R» gtgtttgttggatggttggtttgg, «RSV P» Rox-agtgtgggaaatgctaaagccaagcc-BHQ2). Олигонуклеотидные праймеры и зонды синтезированы в ЗАО «Евроген» (Россия) [14, 15].

Нуклеиновые кислоты (НК) выделяли из образцов культуры клеток ЛЭК с помощью набора РИБО-преп (AmpliSens, Россия), согласно инструкции производителя.

Для реакции амплификации использовали следующий состав реакционной смеси, из расчета на одну пробу: 3 мкл 5х qPCRmix-HS SYBR; 0.2 мкл MMLV – обратной транскриптазы (ЗАО «Евроген», Россия); 0.5 мкл 10 рМ раствора зонда для ПЦР; 10 рМ раствора прямого и обратного праймеров по 0.5 мкл; 5 мкл нуклеиновых кислот и 6.3 - деионизированной воды. Конечный объём реакционной смеси составил 15 мкл. Амплификация нуклеиновых кислот осуществлялась по следующей программе: (I) обратная транскрипция РНК при температуре 37 °С в течение 5 минут; (II) денатурация ДНК при температуре 95 °С в течение 2 минут; (III) 5 циклов, состоящих из: 15 секунд - при 95 °С, 30 секунд - при 59 °С; (IV) 40 циклов, состоящих из: 10 секунд - при 95 °С, 30 секунд при - 59 °С. Детекция результата ПЦР происходит на каждом из 40 циклов третьей стадии ПЦР, при 59 °С по каналам Rox и Fam. Для расчета количества НК в образце готовили серию образцов с 10-кратными разведениями разработанного положительного контрольного образца (которые при амплификации считали стандартами). Количество НК вируса в образцах определяли по показателям амплификатора (основанном на сопоставлении Ct анализируемого образца с Ct стандартных образцов).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Нами, также, как и многими исследователями [38-41] отмечены трудности при культивировании РСВ, связанные с нерегулярным и неодинаковым проявлением ЦПД.

Так культивирование РСВ на перевиваемой линии культур клеток ЛЭК могло сопровождаться как ярко выраженной деструкцией монослоя, отторжением клеток и образованием пустот (рис. 1.1, 1.2), так и формированием скоплений клеток (в виде так называемых фокусов), т.е. развитием цитопатологии синцитиального типа (рис. 1.3-1.5), а в случае с культивированием на перевиваемой линии культур клеток Т-1 преимущественно фокусов (выраженных локализованных очагов поражения в виде клеточных конгломератов) и отходящих от них ярко выраженных тяжей (рис. 2.1-2.5).

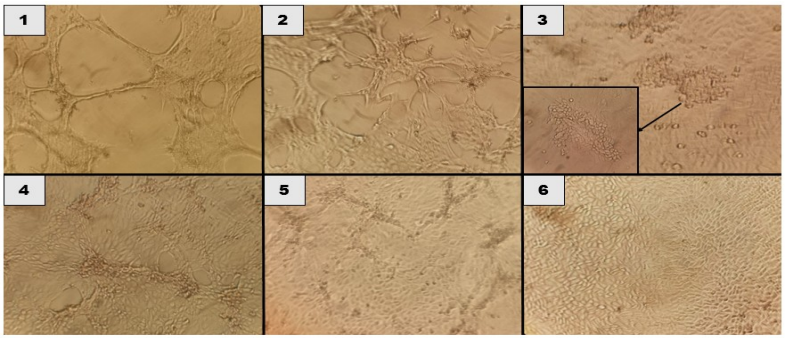


Рисунок 1 – Цитопатическое действие РСВ КРС на культуре клеток ЛЭК через 7 суток после заражения в третьем пассаже: 1-5 – клетки ЛЭК после заражения; 6 – монослой интактной культуры клеток ЛЭК (1-3 - увеличение х400; 4-6 - увеличение х200).

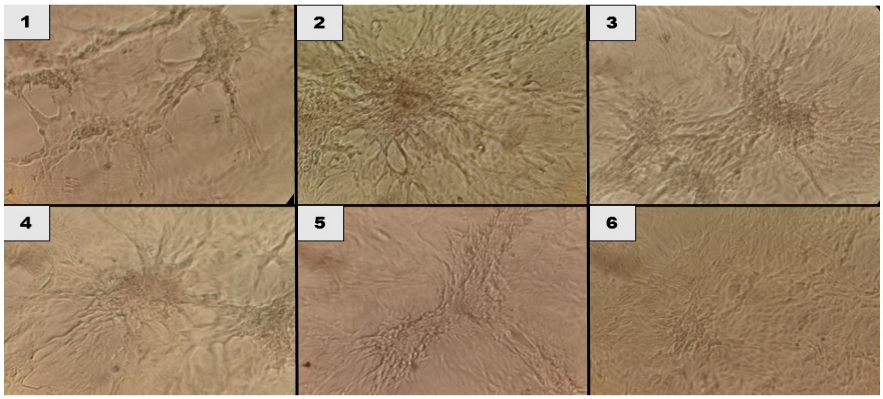


Рисунок 2 – Цитопатическое действие РСВ КРС на культуре клеток Т-1 через 7 суток после заражения в третьем пассаже: 1-5 – клетки Т-1 после заражения; 6 – монослой интактной культуры клеток Т-1 (увеличение х400).

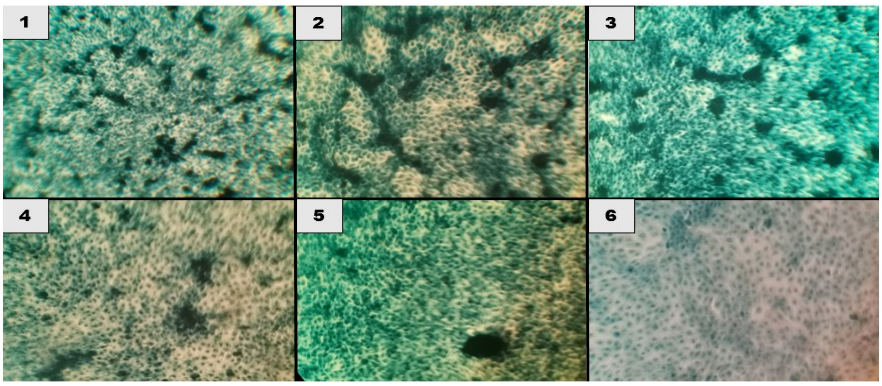


Рисунок 3 – Титрование РСВ КРС (штамм «РБ23») на культуре клеток ЛЭК методом окрашенных фокусов (через 7 суток после заражения, где 1-5 – последовательные разведения вируса, 6 – контроль (увеличение х200)).

Таблица 1 – Определение титра РСВ на перевиваемой линии культур клеток ЛЭК методом ФОЕ

Степень разведения вируссодержащего материала	Среднее количество фокусов в опыте	Среднее количество фокусов во флаконах, отвечающих условиям расчета* (а)	Титр вируса, ФОЕ/см^3 (Т)
10^{-1}	241,5±27,53	–	–
10^{-2}	110,63±30,95	77	$1,5x10^4$
10^{-3}	70,5±18,05	71	$1,4x10^5$
10^{-4}	75,38±15,63	75	$1,5x10^6$
10^{-5}	3,5±3,85	–	–
10^{-6}	0,13±0,35	–	–

*Примечание: * с учётом значений, отвечающих условиям расчета (от 10 до 100 фокусов во флаконе)*

Проведено три последовательных пассажа аттенуированного штамма РСВ КРС «РБ23» на культурах клеток ЛЭК и Т-1 с максимальным проявлением ЦПД на 7 сутки после заражения и инфекционным титром в первом пассаже – 4,08±0,20 lg ТЦД $_{50}$/см^3 и 4,00±0,18 lg ТЦД $_{50}$/см^3; во втором пассаже – 4,25±0,18 lg ТЦД $_{50}$/см^3 и 4,17±0,20 lg ТЦД $_{50}$/см^3 и третьем пассаже – 4,42±0,18 lg ТЦД $_{50}$/см^3 и 4,08±0,10 lg ТЦД $_{50}$/см^3 соответственно. Таким образом, обе клеточные линии являются пермессивными для РСВ. Однако в связи с тем, что на предыдущем этапе работы наиболее чувствительной к вирусам ИРТ и ПГ-3 оказалась перевиваемая культура клеток ЛЭК, технологически удобно продолжать накопление РСВ именно на этой культуре.

В связи с тем, что пассирование РСВ КРС даже в чувствительных культурах клеток не в каждом пассаже сопровождается видимым ЦПД и носит неперманентный характер, что осложняет его культивирование [38-41], инфекционный титр РСВ определялся нами также по числу фокусообразующих единиц (ФОЕ) (рис. 3).

Результаты определения инфекционного титра РСВ третьего пассажа на перевиваемой линии культур клеток ЛЭК методом ФОЕ представлены в таблице 1.

Таким образом, титр РСВ в третьем пассаже составил 1,5х10^6 ФОЕ/см^3.

РСВ слабо реплицировался на перевиваемой линии клеток MDBK и ВНК-21/13. ЦПД, если и проявлялось, то не раньше 8-9 суток во флаконах с разведением вируса 10^{-1} и 10^{-2}. Так инфекционный титр на культуре клеток MDBK составил 0,83±0,10, 1,00±0,18, 0,92±0,10 lg ТЦД $_{50}$/см^3, на культуре клеток ВНК-21/13 – 1,08±0,10, 1,17±0,27, 1,08±0,20 lg ТЦД $_{50}$/см^3 соответственно в первом, втором и третьем пассажах. Таким образом, перевиваемые линии культур клеток почки быка и новорожденного золотистого сирийского хомячка оказались слабочувствительными к изучаемому вирусу в трех последовательных пассажах.

По результатам амплификации вируссодержащего материала из флаконов третьего пассажа, замороженных на 4, 7 и 10 сутки после заражения, показано, что концентрация РСВ имела тенденцию к нарастанию при увеличении срока культивирования до 7 суток, при этом смена среды во флаконах на 4 сутки способствовала усилению репликации вируса (рис. 4)

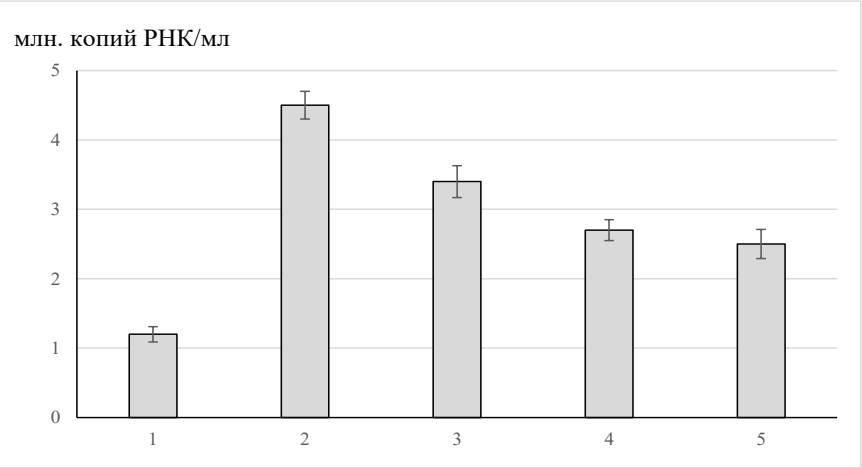


Рисунок 4 – Концентрация РСВ КРС «РБ23» на культуре клеток ЛЭК в зависимости от сроков культивирования (1 – 4 сут; 2 – 7 сут со сменой среды на 4 сут; 3 – 7 сут без смены среды на 4 сут; 4 – 10 сут со сменой среды на 4 сут; 5 – 10 сут без смены среды на 4 сут).

При смене среды на 4 сутки происходило усиление репликативной активности РСВ на 8,6 % относительно флаконов без смены среды к седьмым суткам опыта. Тогда как продолжение культивирования РСВ более 7 суток приводило к снижению концентрации вирионов на 40,0 % во флаконах со сменой и 26,5 % соответственно, без смены среды, что может быть связано с постепенной деградацией внеклеточных вирусных частиц (т.к. РНК плохо сохраняется во внешней среде, эффективность амплификации так же имеет тенденцию к представлению меньших количественных показателей). Инфекционный титр в третьем пассаже на 7 сутки во флаконах со сменой среды на 4 сутки составил 4,75±0,18 lg ТЦД $_{50}$/см^3, что на 7,5 % выше по сравнению с инфекционным титром РСВ во флаконах без смены среды.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, наработана биомасса РСВ «РБ23» для дальнейшего создания живой аттенуированной импортозамещающей вакцины против ИРТ, ПГ-3 и РСВ для назальной иммунизации новорожденных телят. Определена чувствительность различных перевиваемых линий культур клеток к штамму «РБ23». Показано, что клетки ЛЭК и Т-1 являются пермессивными для РСВ. При этом чувствительность клеток ЛЭК превышала чувствительность клеток Т-1 на 1,96, 1,88 и 7,69 % соответственно, в трех последовательных пассажах. Так как на предыдущем этапе работы наиболее чувствительной к вирусам ИРТ и ПГ-3 оказалась перевиваемая культура клеток ЛЭК, технологически удобно продолжать накопление РСВ именно на этой культуре. Смена среды МЕМ с добавлением глутамина при культивировании РСВ на 4 сутки способствовала усилению репликативной активности на 8,6 % по сравнению с флаконами, в которых смена среды не проводилась. Отмечено также, что оптимальным сроком культивирования РСВ является срок семь суток, дальнейшее культивирование приводит к деградации внеклеточных вирусных частиц, что снижает концентрацию вирионов на 26,5-40,0 %. Инфекционный титр РСВ при отсутствии ярко выраженного ЦПД может определяться также методом подсчета фокусообразующих единиц. Таким образом, наработана биомасса РСВ «РБ23» для дальнейшего создания живой аттенуированной импортозамещающей вакцины против ИРТ, ПГ-3 и РСВ для назальной иммунизации новорожденных телят с инфекционным титром РСВ – 4,75±0,18 lg ТЦД $_{50}$/см^3, титром по ФОЕ – 1,5x10^6 ФОЕ/см^3 и количеством вирионов в вируссодержащей суспензии не ниже 4,5±0,20 млн. копий/мл.

IMPROVING THE METHOD OF CULTURING RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS TO CREATE A VACCINE AGAINST RESPIRATORY INFECTIONS IN CALVES

Tarasova E.Yu. [1] – Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Veterinary Sanitation Leading Researcher (ORCID 0000-0002-9056-5798); **Khammadov N.I.** [1,2] – Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Molecular Genetic Analysis, Leading Researcher (ORCID 0000-0001-5669-1486), **Efimova M.A**.[1,2] – Doctor of Biological Sciences, Leading researcher (ORCID: 0000 -0001-8786-1310); **Kashevarov G.S.**[1] – Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Morphological Research, Senior Researcher (ORCID 0000-0002-4520 -7596); **Karimullina I.G.[1] –** Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher (ORCID 0000-0002-6771-3457); **Kalimullin F.Kh.**[1] – Candidate of Biological Sciences, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-2468-3163); **Bykova P.V.** – Junior Researcher (ORCID 0000-0003-3636-0633)

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

[2] FSBEI HE «Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman»

* evgenechka1885@gmail.com

ABSTRACT

The aim of the work was to study the

features of cultivation and determination of the infectious activity of the respiratory syncytial virus strain "RB23" for the further creation of a live attenuated import-substituting vaccine against IRT, PG-3 and RSV for nasal immunization of newborn calves. The quality of replication on cell lines was carried out by assessing infectious titers by the direct cytopathic effect of the virus on mammalian cells, and also using the stained foci method. The degree of RSV replication on the LEC cell culture depending on the cultivation time was determined by the quantitative PCR method. It was shown that LEC and T-1 cells are permissive for RSV. Moreover, the sensitivity of LEC cells exceeded the sensitivity of T-1 cells by 1.96, 1.88 and 7.69%, respectively, in three consecutive passages. Changing the MEM medium with the addition of glutamine during RSV cultivation on the 4th day contributed to an increase in replicative activity by 8.6% compared to flasks in which the medium was not changed. It was also noted that the optimal period for RSV cultivation is seven days, further cultivation leads to the degradation of extracellular viral particles, which reduces the concentration of virions by 26.5-40.0%. The RSV biomass "RB23" has been produced for further development of a live attenuated import-substituting vaccine against IRT, PG-3 and RSV for nasal immunization of newborn calves with an infectious RSV titer of 4.75±0.18 lg TCID 50/cm3, a FFU titer of 1.5x106 FFU/cm3 and a virion count in a virus-containing suspension of at least 4.5±0.20 million copies/ml.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Распространение респираторно-синцитиальной вирусной инфекции КРС на территории ряда регионов Российской Федерации / С. А. Андреев, А. В. Кононов, А. А. Нестеров, Е. А. Бухон, К. А. Шалина // Молодые ученые - науке и практике АПК : Материалы Международной научно-практической конференции аспирантов и молодых ученых, Витебск, 25–26 апреля 2024 года. – Витебск: Витебская государственная академия ветеринарной медицины, 2024. – С. 21–23.

2.Респираторно-синцитиальная инфекция крупного рогатого скота: особенности клинического проявления, патогенеза и молекулярной эпизоотологии (обзор) / С.В. Котенева , А.Г. Глотов , Т.И. Глотова [и др.] // Ветеринария сегодня. – 2025. – № 14(2). – С. 133-139. https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-2-133-139.

3.Изучение антигенных свойств ассоциированной вакцины против ИРТ, ВД-БС, ПГ-3 и хламидиоза крупного рогатого на кроликах / И. Р. Акбашев, С. В. Садыкова, Л. М. Яшагина [и др.] // Ветеринарный врач. – 2024. – № 2. – С. 39–42. https://doi.org/ 10.33632/1998-698X_2024_2_39.

4.Bovine respiratory disease during the mid-portion of the feeding period: Observations from vaccination history, viral and bacterial prevalence, and rate of gain in feedlot cattle / M. E. Theurer, M. D. Johnson, T. Fox [et al.] // Appl. Anim. Sci. – 2021. – № 37. – P. 59–67. https://doi.org/10.15232/aas.2020-02090

5.Культуральные свойства вируса респираторно-синцитиальной инфекции крупного рогатого скота штамма «АБ 1908» / В.В. Кирпиченко, С.В. Кононова, А.В. Кононов [и др.] // Ветеринария сегодня. – 2019. – № 4. С. 31-36. https://doi.org/10.29326/2304-196X-2019-4-31-31-36

6.Коровкин А.С., Горенков Д.В., Волгин А.Р. Профилактика респираторно-синцитиальной вирусной инфекции: современное состояние и перспект ивы разработки вакцин // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2024. – № 24(3). – С. 255–269. https://doi.org/10.30895/2221-996X-2024-24-3-255-26

7.Vaccination of calves at day of birth with attenuated vaccines against bovine respiratory syncytial virus, bovine parainfluenza type 3 virus and respiratory bovine coronavirus / M. H. van Rooij, M. Schmitz, J. M. H. Meessen [et al.] // Veterinary Vaccine. – 2023. – Vol. 2 (1). – 100014. https://doi.org/10.1016/j.vetvac.2023.100014

8. Comparative effectiveness of intranasal

and parenteral vaccines for prevention of bovine respiratory disease in feedlot heifers / J. I. Szasz, T. C. Bryant, K. S. Blood [et al.] // Applied Animal Science. – 2023. – Vol. 39 (5). – P. 273–281. https://doi.org/10.15232/aas.2023-02396

9. Строганова И. Я., Войтова К. В. Методы обнаружения и идентификации респираторно-синцитиального вируса крупного рогатого скота в культуре клеток // Вестник КрасГАУ. – 2011. – №3. – С. 128-133. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/metody-obnaruzheniya-i-identifikatsii-respiratorno-sintsitialnogo-virusa-krupnogo-rogatogo-skota-v-kulture-kletok (дата обращения: 04.08.2025).

10. Chamorro M. F., Palomares R. A. Bovine respiratory disease vaccination against viral pathogens. Modified-live versus inactivated antigen vaccines, intranasal versus parenteral, what is the evidence? // Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. – 2020. – № 36. – P. 461–472. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2020.03.006.

11. Modified-live versus inactivated respiratory viral vaccines for revaccinating beef calves at weaning / C.A. McNeff, C.A. Robison, B.K. Wilson [et al.] // Applied Animal Science. – 2023. – № 39 (1). – С. 1-13. https://doi.org/10.15232/aas.2022-02332

12. Reed L., Muench H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints // American Journal of Epidemiology. – 1938. – № 27(3). – С. 493-497.

13. Calnec, B.W., Ljarrido E., Okazaki W. In vitro methods for assay of turkey herpes virus / V Avian Dis. – 1972. – V.16. – P.52-56. https://n2t.net/ark:/87292/w9sj33

14. Дизайн праймеров для индикации патогенных лептоспир методом гнездовой полимеразной цепной реакции в режиме реального времени / К.В. Усольцев, Р.И. Шангараев, К.С. Хаертынов [и др.] // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2025. – № 2. – С. 95-106. https://doi.org/10.36871/vet.zoo.bio.202502111

15. Дизайн специфических олигонуклеотидов для выявления контаминации культур клеток возбудителем вирусной диареи и микоплазмами при разработке интраназальной вакцины против респираторных болезней новорожденных телят / Н. И. Хаммадов, М. Е. Горбунова, М. А. Ефимова [и др.] // Ветеринарный врач. – 2025. – № 3. – С. 98-104. – https://doi.org/10.33632/1998-698X_2025_3_98.

REFERENCES

1. Spread of bovine respiratory syncytial virus infection in a number of regions of the Russian Federation / S. A. Andreev, A. V. Kononov, A. A. Nesterov, E. A. Bukhon, K. A. Shalina // Young scientists - for science and practice of the agro-industrial complex: Proceedings of the International scientific and practical conference of postgraduate students and young scientists, Vitebsk, April 25-26, 2024. - Vitebsk: Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, 2024. - P. 21-23. (In Russ.)

2. Bovine respiratory syncytial infection: features of clinical manifestation, pathogenesis and molecular epizootology (review) / S.V. Koteneva, A.G. Glotov, T.I. Glotova [et al.] // Veterinary science today. - 2025. - No. 14 (2). - P. 133-139. https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-2-133-139. (In Russ.)

3. Study of antigenic properties of the associated vaccine against IRT, VD-BS, PG-3 and bovine chlamydia in rabbits / I. R. Akbashev, S. V. Sadykova, L. M. Yashagina [et al.] // Veterinarian. - 2024. - No. 2. - P. 39-42. https://doi.org/ 10.33632/1998-698X_2024_2_39. (In Russ.)

4. Bovine respiratory disease during the mid-portion of the feeding period: Observations from vaccination history, viral and bacterial prevalence, and rate of gain in feedlot cattle / M. E. Theurer, M. D. Johnson, T. Fox [et al.] // Appl. Anim. Sci. – 2021. – № 37. – P. 59–67. https://doi.org/10.15232/aas.2020-02090

5. Cultural properties of the bovine respiratory syncytial virus strain "AB 1908" / V.V. Kirpichenko, S.V. Kononova, A.V. Kononov [et al.] // Veterinary Science Today. - 2019. - No. 4. P. 31-36. https://doi.org/10.29326/2304-196X-2019-4-31-31-36 (In Russ.)

6. Korovkin A.S., Gorenkov D.V., Volgin A.R. Prevention of respiratory syncytial vi-

rus infection: current status and prospects for vaccine development // BIOpreparations. Prevention, diagnostics, treatment. - 2024. - No. 24 (3). - P. 255-269. https://doi.org/10.30895/2221-996X-2024-24-3-255-26 (In Russ.)
7. Vaccination of calves at day of birth with attenuated vaccines against bovine respiratory syncytial virus, bovine parainfluenza type 3 virus and respiratory bovine coronavirus / M. H. van Rooij, M. Schmitz, J. M. H. Meessen [et al.] // Veterinary Vaccine. – 2023. – Vol. 2 (1). – 100014. https://doi.org/10.1016/j.vetvac.2023.100014
8. Comparative effectiveness of intranasal and parenteral vaccines for prevention of bovine respiratory disease in feedlot heifers / J. I. Szasz, T. C. Bryant, K. S. Blood [et al.] // Applied Animal Science. – 2023. – Vol. 39 (5). – P. 273–281. https://doi.org/10.15232/aas.2023-02396
9. Stroganova I. Ya., Voitova K. V. Methods for detection and identification of bovine respiratory syncytial virus in cell culture // Bulletin of KrasSAU. - 2011. - No. 3. - P. 128-133. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/metody-obnaruzheniya-i-identifikatsii-respiratorno-sintsitialnogo-virusa-krupnogo-rogatogo-skota-v-kulture-kletok (date of access: 04.08.2025). (In Russ.)
10. Chamorro M. F., Palomares R. A. Bovine respiratory disease vaccination against viral pathogens. Modified-live versus inactivated antigen vaccines, intranasal versus parenteral, what is the evidence? // Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. – 2020. – № 36. – P. 461–472. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2020.03.006.
11. Modified-live versus inactivated respiratory viral vaccines for revaccinating beef calves at weaning / C.A. McNeff, C.A. Robison, B.K. Wilson [et al.] // Applied Animal Science. – 2023. – № 39 (1). – C. 1-13. https://doi.org/10.15232/aas.2022-02332
12. Reed L., Muench H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints // American Journal of Epidemiology. – 1938. – № 27(3). – C. 493-497.
13. Calnec, B.W., Ljarrido E., Okazaki W. In vitro methods for assay of turkey herpes virus / V Avian Dis. – 1972. – V.16. – P.52-56. https://n2t.net/ark:/87292/w9sj33
14. Design of primers for the indication of pathogenic leptospira by the nested polymerase chain reaction method in real time / K.V. Usoltsev, R.I. Shangaraev, K.S. Khaertynov [et al.] // Veterinary science, zootechnics and biotechnology. - 2025. - No. 2. - P. 95-106. https://doi.org/10.36871/vet.zoo.bio.202502111 (In Russ.)
15. Design of specific oligonucleotides for detection of contamination of cell cultures with the causative agent of viral diarrhea and mycoplasmas in the development of an intranasal vaccine against respiratory diseases of newborn calves / N. I. Khammadov, M. E. Gorbunova, M. A. Efimova [et al.] // Veterinarian. - 2025. - No. 3. - P. 98-104. - https://doi.org/ 10.33632/1998-698X_2025_3_98. (In Russ.)

УДК: 57.088.1:577.215.3:578.222:578.223:608.2
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.107

РАЗРАБОТКА МУЛЬТИПЛЕКСНОГО ПЦР-АНАЛИЗА В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОЙ БУРСАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ И ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОЙ АНЕМИИ ЦЫПЛЯТ

Семина А.Н.* – канд. ветеринар. наук, вед. науч. сотр. отдела молекулярно-биологических исследований (ORCID 0000-0001-7641-9105); **Дмитриев К.Ю.** – канд. ветеринар. наук, стар. науч. сотр. отдела молекулярно-биологических исследований (ORCID 0000-0001-9741-3247)

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства (ВНИВИП) – филиал ФГБНУ ФНЦ «ВНИТИП»

** anna14.05@mail.ru*

Ключевые слова: *вирус, птица, инфекция, диагностика, ПЦР, ДНК, РНК, геном, болезнь Гамборо, инфекционная анемия цыплят.*

Key words: *virus, bird, infection, diagnosis, PCR, DNA, RNA, gene, Gumboro disease, infectious chicken anaemia.*

Финансирование: *Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства сельского хозяйства Российской Федерации (тема № 1022041100550-5-4.3.1).*

Поступила: 18.07.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Инфекционная бурсальная болезнь и инфекционная анемия цыплят являются значимыми и актуальными проблемами современной отрасли птицеводства. Вирус инфекционной бурсальной болезни (ИББ) и вирус инфекционной анемии цыплят (ИАЦ) имеют широкое распространение, вызывают серьёзные поражения лимфоидных органов и тканей, в результате которых развиваются тяжёлые иммунодепрессивные состояния приводящие к повышению восприимчивости птиц к другим инфекциям, падению продуктивных показателей, снижению эффективности профилактических мероприятий и росту экономических затрат. Данные болезни в настоящее время в основном протекают в субклинической форме, по вакцинному фону, в ассоциации, сопровождаются возникновением вторичных инфекций, отсутствием характерных клинических признаков, что затрудняет проведение диагностических исследований. Мы разработали мультиплекс ПЦР-анализ в реальном времени, который позволяет одновременно детектировать оба вируса в одной пробе. Данный ПЦР -анализ основан на праймерах, которые предназначены для выявления высоко консервативных перекрывающихся областей геномов вирусов ИББ и ИАЦ, и TaqMan-зондов в качестве системы детекции. Тесты на аналитическую чувствительность при 10-кратных серийных разведениях, показали, что анализ имеет высокий коэффициент детерминации

и эффективности. Анализ обладает специфичностью, отсутствием перекрёстной реактивности и неспецифической амплификации. Коэффициенты детерминации, эффективность реакции, низкая внутри- и межсерийная вариабельность сопоставимы с одиночными анализами на вирусы ИББ и ИАЦ. Мультиплексный формат позволяет существенно сократить время анализа, снизить риски возникновения контаминации, сохранив высокую чувствительность и специфичность реакции. Ожидается, что предложенный формат ПЦР-анализа обеспечит возможность быстро идентифицировать вирусы ИББ и ИАЦ, что значительно повысит эффективность диагностических исследований.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Инфекционная бурсальная болезнь и инфекционная анемия цыплят являются значимыми и актуальными проблемами современной отрасли птицеводства. Обладая выраженным тропизмом к лимфоидным органам и тканям, эти вирусы нарушают функционирование иммунной системы птиц, в результате чего развивается иммуносупрессия, снижаются показатели продуктивности, увеличивается отход молодняка и, как следствие, значительно увеличиваются совокупные экономические затраты [1]. В результате поражения иммунной системы увеличивается восприимчивость птицы к вторичным инфекциям и снижается эффективность специфической профилактики [2].

Этиологическим агентом инфекционной бурсальной болезни является *Avibirnavirus* из семейства *Birnaviridae*, геном вируса представлен двухцепочечной сегментированной РНК. Основными вирусными белками являются VP1, VP2 и VP3 [3]. VP2 это основной капсидный белок вируса ИББ, помимо формирования капсида, он участвует в процессе прикрепления вируса к клетке-хозяину, является носителем основных антигенных детерминант, а мутации в его гипервариабельных областях могут влиять на патогенность вируса. Функция VP3 заключается в связывании вирусной РНК для формирования нуклеокапсида и участии в репликации вируса посредством взаимодействия с РНК-зависимой РНК-полимеразой (VP1), а также в сборке вирусных частиц [4]. VP1 является РНК-зависимой РНК-полимеразой. Он обеспечивает репликацию вирусного генома. VP1 взаимодействуя с VP3 образуют репликативный комплекс обеспечивающий стабильность и защиту вирусного генома, репликацию и транскрипцию вирусной РНК и сборку новых вирионов [5].

Инфекционную анемию цыплят – вызывает *Gyrovirus* семейства *Anelloviridae.* Его геном представлен одноцепочечной кольцевой ДНК. Основными вирусными белками являются VP1, VP2, VP3 [6]. VP1- структурный белок, отвечающий за формирование капсида, в своей структуре он содержит основные эпитопы для нейтрализации вирусной активности антителами организма-хозяина. Белок VP2 является конформационным белком. Выступая в роли шаперона, он отвечает за правильную укладку VP1 при сборке зрелых вирионов. В виду того, что VP2 обладает фосфатазной активностью двойной специфичности он участвует в процессе репликации вирусной ДНК [7]. Белок VP3 – апоптин, вызывает апоптоз лимфоидных клеток организма-хозяина. VP3 является ключевым фактором патогенеза ИАЦ, играет важную роль в репликации и распространении вируса [8].

Инфекционная анемия цыплят и инфекционная бурсальная болезнь имеют сходные патологоанатомические признаки, такие как наличие геморрагий в мышцах и фабрициевой сумке, атрофия бурсы, наличие в бурсе экссудата. Для вируса ИББ и ИАЦ характерен тропизм к лимфоидным органам и тканям. На фоне поражения органов иммунной системы развивается иммуносупрессия, что приводит к возникновению вторичных инфекций. Болезни часто протекают в субклинической форме, с отсутствием характерных клинических признаков, в виде ассоциированной инфекции, что затрудняет диагностику [9, 10].

В настоящее время, наиболее эффективным методом диагностики этих болезней является метод ПЦР. Данный метод

подходит для диагностики болезней с неясной клинической картиной [11]. Обладая рядом очевидных преимуществ над классическими диагностическими методами, ПЦР в реальном времени позволяет разработать протокол проведения исследований для одновременного выявления генетического материала вирусов ИББ и ИАЦ в одной пробе [12].

В рамках данного исследования был разработан и валидирован протокол мультиплексной ПЦР в реальном времени для выявления геномов вирусов ИББ и ИАЦ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Основой для подбора праймеров ПЦР -анализа послужили данные о полных и частичных геномных последовательностях вирусов ИББ и ИАЦ, представленные в базе данных генетических последовательностей GenBank (NCBI). Используя полученные нуклеотидные последовательности, было проведено множественное выравнивание последовательностей с использованием программного обеспечения MEGA 11. После анализа и выявления наиболее консервативных участков генома был осуществлён подбор праймеров для каждого вируса с использованием сервиса PrimerQuest Tool (IDT). Анализ полученных праймеров осуществлялся с использованием сервиса OligoAnalayze Tool (IDT) и программного обеспечения Gene Runner 6.5. После выбора наиболее перспективных пар праймеров их синтез был осуществлён компанией ООО «Бигль» (Санкт-Петербург). После апробирования синтезированных праймеров и исключения наименее пригодных праймеров для использования в последующем мультиплекс анализе использовались праймеры, структура которых приведена в таблице 1.

Таблица 1 – Праймеры используемые в мультиплексной ПЦР-РВ

Название возбудителя	Последовательность праймеров	Размер ампликона, п.н.
ИАЦ	ACGCTAAGATCTGCAACTG	130
	TTACCCTGTACTCGGAGG	
	HEX-CAAGCCTCC-ZEN- CTCGAAGAAGC-3IABkFQ	
ИББ	CMAGATCAAACCCAACAGATTGT	115
	CTCTGACCTGAGAGTGTGCTTCTC	
	FAM-ACGGAGCCT-ZEN-TCTGATGCCAACAACC-IBFQ	

В качестве контрольных образцов использовались штаммы 26Р4 (ИАЦ), ВНИВИП (ИББ) и Lukert (ИББ), а также заведомо положительные образцы из патологического материала. Положительный результат анализа характеризовался экспоненциальной кинетикой реакции с последующим достижением плато.

Экстракцию ДНК и РНК осуществляли с использованием набора «РИБОсорб» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия). Обратную транскрипцию РНК вируса ИББ проводили набором «РЕВЕРТА - L» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия).

Реакция ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) проводилась в конечном объёме 25 мкл. Реакционная смесь состояла из 5 мкл коммерческой смеси 5X qPCRmix-HS (ЗАО Евроген, Россия), 0,5 мкл прямого и 0,5 мкл обратного праймеров (концентрация каждого 10 пмоль), 0,25 мкл зонда (концентрация 10 пмоль), 10 мкл исследуемого образца и 8,75 воды, не содержащей нуклеаз. При постановке реакции в обязательном порядке использовались отрицательные контрольные образцы. Состав реакционной смеси для контрольных образцов был идентичен

составу исследуемых проб, но не содержал ДНК-матрицы. Амплификацию ДНК проводили с использованием термоциклеров Locus Intero (Tianlong, Китай) и CFX 96 (Bio-Rad, США) с использованием следующего режима: 1) предварительная денатурация – 95°C - 5 минут – 1 цикл; 2) денатурация – 95°C - 10 секунд, отжиг – 60°C - 30 секунд, элонгация – 72°C - 20 секунд – 39 циклов. Детекцию флуоресцентного сигнала осуществляли на этапе отжига. Учёт результатов осуществлялся на основании анализа кривых амплификации флуоресцентного сигнала по каналу FAM для ИББ и HEX для ИАЦ.

Специфичность мультиплексной ПЦР в режиме реального времени (мПЦР-РВ) определялась путём оценки способности разработанного анализа выявлять целевые последовательности вирусов ИББ и ИАЦ, отсутствию перекрестной реактивности и неспецифической амплификации. Для определения аналитической чувствительности использовали 10-кратные серийные разведения кДНК, охватывающие диапазон от 10^{-1} до 10^{-8}.

Воспроизводимость результатов оценивали по коэффициенту вариации (CV) в пределах одного аналитического цикла и между циклами, используя три повтора для каждого разведения.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате анализа геномных последовательностей в качестве целевой мишени для подбора праймеров была выбрана перекрывающаяся область VP5/VP2 сегмента А генома вируса ИББ, и консервативная область VP2/VP3 генома вируса ИАЦ.

Для каждого из указанных консервативных участков геномов обоих вирусов был подобран ряд праймеров. Используя алгоритм Blast (NCBI), был проведен анализ подобранных праймеров для исключения пар с нежелательной гомологией в отношении нецелевых последовательностей. Система детекции была основана на использовании TaqMan-зондов с флуоресцентными метками FAM (6-карбоксифлуоресцеин) для ИББ и гексахлорфлуоресцеином (HEX) для ИАЦ. В результате исследований с гетеро- и гомогенными пробами было подтверждено, что выбранные пары праймеров (таблица 1) являются специфичными в отношении целевых мишеней и отсутствует неспецифическая амплификация (рисунок 1).

Несмотря на ряд успешно проведённых анализов, параметры проведения реакции с использованием данных праймеров требовали доработки и оптимизации. Для определения оптимальной концентрации праймеров используемых в реакции были проведены серии анализов с использованием различного объема каждого праймера (от 0,5 мкл до 2,0 мкл). Исходя из данных приведенных в таблице 2 следует, что средний наименьший пороговый цикл для обоих наборов праймеров достигался при использовании 1 мкл каждого праймера с концентрацией 10 пмоль/мкл.

Так как объём используемых в анализе TaqMan-зондов может значительно влиять на получаемые результаты (форма графиков амплификации, уровень флуоресценции и шумов, эффективность амплификации) следующим важным этапом необходимо было определить оптимальную концентрацию зондов. При проведении исследований с использованием различных концентраций зондов (от 0,25 мкл до 2,0 мкл), с каждым последующим увеличением объема используемых зондов, наблюдалось уменьшение интенсивности роста кривой амплификации в экспоненциальной фазе. Учитывая результаты приведенные в таблице 3, использование 0,25 мкл зонда являлось наиболее оптимальным.

Поскольку температура отжига праймеров является критическим параметром для эффективной и специфичной амплификации, следующим этапом нашей работы была её оптимизация. В отличие от этапов денатурации и элонгации, которые проводятся в стандартных температурных диапазонах (90-95 °C и 68-72 °C соответственно), температура отжига требует индивидуального подбора для каждой новой пары праймеров. Результаты исследований представлены в таблице 4.

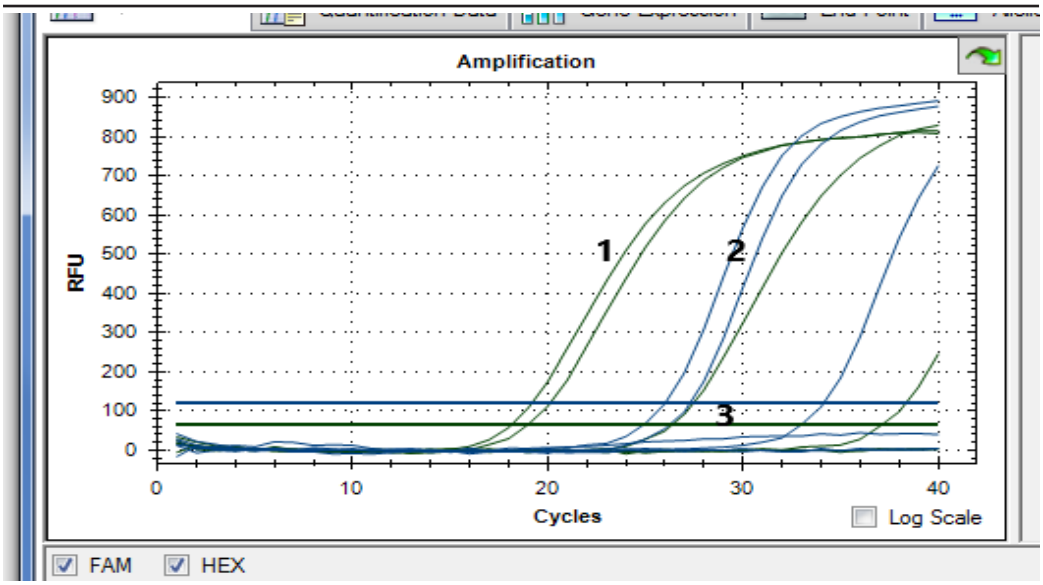


Рисунок 1 – График амплификации целевого фрагмента генома вируса ИББ и ИАЦ: 1 - образцы проб, содержащие геном вируса ИАЦ; 2 - образцы проб, содержащие геном вируса ИББ; 3 - образцы отрицательного контроля и проб, не содержащих геном ИББ и ИАЦ.

Таблица 2 – Значения порогового цикла при подборе оптимальной концентрации праймеров в мПЦР-РВ для ИББ и ИАЦ

Объем праймеров в мкл (концентрация 10 пмоль/мкл)	Среднее значение Ct	
	ИББ	ИАЦ
0,25	22,00	21,60
0,5	21,13	19,51
1,0	20,07	18,12
1,5	23,48	24,35
2,0	26,80	30,54

Таблица 3 – Значения порогового цикла при подборе оптимальной концентрации флуоресцентного зонда в мПЦР-РВ для ИББ и ИАЦ

Объем зонда в мкл (концентрация 10 пмоль/мкл)	Среднее значение Ct	
	ИББ	ИАЦ
0,25	20,03	18,42
0,5	21,28	19,91
0,75	22,75	21,40
1,0	30,98	25,29
1,5	32,98	25,54
2,0	36,44	26,05

Таблица 4 – Значения порогового цикла (Ct) при подборе оптимальной температуры отжига праймеров и зонда

Температура отжига		Среднее значение Ct	
		ИББ	ИАЦ
50 °C	15 сек	37,4	35,1
	20 сек	36,2	34,8
	30 сек	32,6	31,5
55 °C	15 сек	35,9	30,2
	20 сек	33,2	32,7
	30 сек	30,1	29,6
56 °C	15 сек	34,8	26,7
	20 сек	28,4	25,4
	30 сек	26,5	23,02
57 °C	15 сек	33,8	25,1
	20 сек	29,3	26,4
	30 сек	28,1	22,6
58 °C	15 сек	32,6	26,8
	20 сек	29,1	25,4
	30 сек	28,03	24,03
59 °C	15 сек	30,2	22,1
	20 сек	27,8	20,2
	30 сек	26,3	20,01
60 °C	15 сек	27,1	21,6
	20 сек	25,7	20,3
	30 сек	24,8	18,19

Полученные в ходе экспериментов данные, представленные в таблице 4, указывают на то, что наиболее оптимальной температурой отжига праймеров является температура 60^0C.

Чувствительность является одним из наиболее значимых критериев оценки ПЦР-РВ. Для определения чувствительности разработанного анализа были подготовлены серийные десятикратные разведения выделенной суммарной РНК и ДНК целевых вирусов. С целью повышения статистической значимости результатов, каждое разведение было проанализировано в трёх повторностях. По полученным результатам установлено, что данный протокол позволяет обнаружить геном ИАЦ вплоть до разведения 10^{-7}, а геном ИББ – до разведения 10^{-5}.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Цель настоящего исследования состояла в разработке протокола мультиплекс ПЦР-РВ, для выявления генетического материала вирусов ИББ и ИАЦ.

В рамках разработки протокола, на основе анализа большого числа последовательностей, представленных в GenBank, были определены целевые, частично перекрывающиеся области геномов ИББ (VP5/VP2) и ИАЦ (VP2/VP3). Этот выбор обусловлен низкой вариабельностью и высокой степенью консервативности этих областей, а также позволяет охватывать большое количество вариаций данных вирусов с учетом мутационной изменчивости.

Для одновременной идентификации вируса ИББ и ИАЦ был разработан мПЦР

-анализ, основанный на использовании зондов, меченных различными флуорофорами. Аналитическая валидация протокола мПЦР включала оценку специфичности, чувствительности и воспроизводимости. Анализ продемонстрировал высокую специфичность, характеризующуюся отсутствием перекрёстной реактивности и неспецифической амплификации.

Несмотря на то, что для постановки ПЦР требуется дополнительно провести реакцию обратной транскрипции (ОТ) для РНК вируса ИББ, это не оказывает негативного влияния на ДНК вируса ИАЦ и, соответственно, на итоговые результаты ПЦР-анализа.

Разработанный протокол мультиплекс ПЦР-РВ позволяет быстро и точно выявлять геном вируса ИББ и ИАЦ в исследуемых образцах, что важно для своевременной постановки диагноза и проведения профилактических и противоэпизоотических мероприятий.

DEVELOPMENT OF MULTIPLEX REAL-TIME PCR ANALYSIS FOR THE DETECTION OF INFECTIOUS BURSA VIRUS AND INFECTIOUS CHICKEN ANAEMIA VIRUS

Semina A.N. * – Candidate of Veterinary Sciences, Leading Researcher Researcher Department of Molecular Biology Research (ORCID 0000-0001-7641-9105); **Dmitriev K.Y. –** Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher at the Department of Molecular Biology Research

All-Russian Research Veterinary Institute of Poultry Science – branch of the Federal Scientific Center «All-Russian Research and Technological Institute of Poultry»

* anna14.05@mail.ru

Financing: *The work was carried out as part of the state assignment of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation (theme No. 1022041100550-5-4.3.1).*

ABSTRACT

Infectious bursal disease and infectious anemia of chickens are significant and pressing problems in the modern poultry industry.The infectious bursal disease virus (IBDV) and chicken infectious anemia virus (CIAV) are highly prevalent, causing severe damage to lymphoid organs and tissues. This results in significant immunosuppression, increasing poultry susceptibility to secondary infections, reducing production performance, diminishing the efficacy of preventive measures, and raising economic losses. Currently, these diseases primarily occur in subclinical forms, against a vaccine-induced immunity background, and in co-infections. They are often accompanied by secondary infections and lack distinctive clinical signs, complicating diagnosis. We developed a multiplex real-time PCR assay for simultaneous detection of both viruses in a single sample. The assay employs primers targeting highly conserved overlapping regions of the IBDV and CIAV genomes, with TaqMan probes for detection. Analytical sensitivity testing using 10-fold serial dilutions confirmed high coefficients of determination and amplification efficiency. The assay demonstrates high specificity, with no cross-reactivity or nonspecific amplification. Its performance metrics (determination coefficients, reaction efficiency, and low intra- and inter-assay variability) are comparable to single-assays for IBDV and CIAV. The multiplex format significantly reduces processing time, minimizes contamination risks, and maintains high sensitivity and specificity. This PCR assay is expected to enable rapid and accurate identification of IBDV and CIAV, greatly improving diagnostic efficiency.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. J. Hoerr. Clinical aspects of immunosuppression in poultry. Avian Dis. 54 (2010): 2–15. URL: https://doi.org/10.1637/8909-043009-Review.1.

2. Gimeno IM, Schat KA. Virus-Induced Immunosuppression in Chickens. Avian Dis. 2018 Sep;62(3):272-285. doi:10.1637/11841-041318-Review.1. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30339511/.

3. M. E. Dmitrieva, A. S. Dubovoi, V. A. Manuvera [et al.]. Biological properties of infectious bursal disease virus. Research

Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2018. Vol. 9, No. 6: 1891-1896. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=38674853.
4. Shirokov D. A., Manuvera V. A., Lazarev V. N. [et al.]. Complete genome sequence of a novel very virulent strain of infectious bursal disease virus circulating in Russia. Microbiology Resource Announcements. 2018. Vol. 7, No.20: e01084-18. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=38618595.
5. Shirokov D. A., Manuvera V. A., Lazarev V. N. [et al.]. Generation of recombinant VP3 protein of infectious bursal disease virus in three different expression systems, antigenic analysis of the obtained polypeptides and development of an ELISA test. Archives of Virology. 2020. Vol. 165, No. 7: 1611-1620. - DOI 10.1128/MRA.01084-18. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=43274990.
6. Lin W, Zhang Z, Xu Z. et al. The association of receptor of activated protein kinase C 1(RACK1) with infectious bursal disease virus viral protein VP5 and voltage-dependent anion channel 2 (VDAC2) inhibits apoptosis and enhances viral replication. J Biol Chem. 2015. Mar 27; 290 (13): 8500-10. URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925820639904?via%3Dihub.
7. Rosario, M. Breitbart, B. Harrach, J. Segalés, E. Delwart, P. Biagini, A. Varsani. Revisiting the taxonomy of the family Circoviridae: establishment of the genus Cyclovirus and removal of the genus Gyrovirus. Arch. Virol. 162 (2017): 1447–1463. URL: https://link.springer.com/article/10.1007/s00705-017-3247-y.
8. Claudia Techera, Ana Marandino, Gonzalo Tomás, Sofía Grecco, Martín Hernández, Diego Hernández, Yanina Panzera & Ruben Pérez. Origin, spreading and genetic variability of chicken anaemia virus. Avian Pathology. 2021. T.50:4: 311-320. URL: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/03079457.2021.1919289.
9. Lai GH, Lin MK, Lien YY, Cheng JH, Sun FC, Lee MS, Chen HJ, Lee MS. Characterization of the DNA binding activity of structural protein VP1 from chicken anaemia virus. BMC Vet Res. 2018. May 4. - T. 14 (1): 155. URL: https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-018-1465-5.
10. E. Eregae, C. E. Dewey, S. A. McEwen, R. Ouckama, D. Ojkić, M. T. Guerin. Flock prevalence of exposure to avian adeno-associated virus, chicken anemia virus, fowl adenovirus, and infectious bursal disease virus among Ontario broiler chicken flocks. Avian Dis. 2014 (58): 71–77. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24758116/.
11. Абгарян, С. Р. Молекулярно-биологические методы диагностики болезней птиц / С. Р. Абгарян // Актуальные вопросы ветеринарной медицины и лабораторной диагностики : материалы международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора В.В. Рудакова, Санкт-Петербург, 25–26 мая 2023 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2023. – С. 3-5. – Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=54023930.
12. Marandino, G. Tomás, M. Hernández, Y. Panzera, M.I. Craig, A. Vagnozzi, F. Vera, C. Techera, S. Grecco, A. Banda, D. Hernández, R. Pérez. Development of RT-qPCR assays for the specific identification of two major genotypes of avian infectious bronchitis virus. J. Virol. Methods. 2016. 235: 21–25. URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166093416300325?via%3Dihub.

REFERENCES

1. J. Hoerr. Clinical aspects of immunosuppression in poultry. Avian Dis. 54 (2010): 2–15. URL: https://doi.org/10.1637/8909-043009-Review.1.
2. Gimeno IM, Schat KA. Virus-Induced Immunosuppression in Chickens. Avian Dis. 2018 Sep;62(3):272-285. doi:10.1637/11841-041318-Review.1. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30339511/.
3. M. E. Dmitrieva, A. S. Dubovoi, V. A. Manuvera [et al.]. Biological properties of infectious bursal disease virus. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and

Chemical Sciences. 2018. Vol. 9, No. 6: 1891-1896. Access mode: https://elibrary.ru/item.asp?id=38674853.
4. Shirokov D. A., Manuvera V. A., Lazarev V. N. [et al.]. Complete genome sequence of a novel very virulent strain of infectious bursal disease virus circulating in Russia. Microbiology Resource Announcements. 2018. Vol. 7, No.20: e01084-18. Access mode: https://elibrary.ru/item.asp?id=38618595.
5. Shirokov D. A., Manuvera V. A., Lazarev V. N. [et al.]. Generation of recombinant VP3 protein of infectious bursal disease virus in three different expression systems, antigenic analysis of the obtained polypeptides and development of an ELISA test. Archives of Virology. 2020. Vol. 165, No. 7: 1611-1620. - DOI 10.1128/MRA.01084-18. Access mode: https://elibrary.ru/item.asp?id=43274990.
6. Lin W, Zhang Z, Xu Z. et al. The association of receptor of activated protein kinase C 1 (RACK1) with infectious bursal disease virus viral protein VP5 and voltage-dependent anion channel 2 (VDAC2) inhibits apoptosis and enhances viral replication. J Biol Chem. 2015. Mar 27; 290 (13): 8500-10. URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925820639904?via%3Dihub.
7. Rosario, M. Breitbart, B. Harrach, J. Segalés, E. Delwart, P. Biagini, A. Varsani. Revisiting the taxonomy of the family Circoviridae: establishment of the genus Cyclovirus and removal of the genus Gyrovirus. Arch. Virol. 162 (2017): 1447–1463. URL: https://link.springer.com/article/10.1007/s00705-017-3247-y.
8. Claudia Techera, Ana Marandino, Gonzalo Tomás, Sofía Grecco, Martín Hernández, Diego Hernández, Yanina Panzera & Ruben Pérez. Origin, spreading and genetic variability of chicken anemia virus. Avian Pathology. 2021. T.50:4: 311-320. URL: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/03079457.2021.1919289.
9. Lai GH, Lin MK, Lien YY, Cheng JH, Sun FC, Lee MS, Chen HJ, Lee MS. Characterization of the DNA binding activity of structural protein VP1 from chicken anemia virus. BMC Vet Res. 2018. May 4. - T. 14 (1): 155. URL: https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-018-1465-5.
10. E. Eregae, C. E. Dewey, S. A. McEwen, R. Ouckama, D. Ojkić, M. T. Guerin. Flock prevalence of exposure to avian adeno-associated virus, chicken anemia virus, fowl adenovirus, and infectious bursal disease virus among Ontario broiler chicken flocks. Avian Dis. 2014 (58): 71–77. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24758116/.
11. Abgaryan, S. R. Molecular biological methods for diagnosing bird diseases / S. R. Abgaryan // Current issues of veterinary medicine and laboratory diagnostics: Proceedings of the international scientific and practical conference dedicated to the 100th anniversary of the birth of Professor V.V. Rudakov, St. Petersburg, May 25–26, 2023. – St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2023. – Pp. 3–5. – Access mode: https://elibrary.ru/item.asp?id=54023930.
12. Marandino, G. Tomás, M. Hernández, Y. Panzera, M.I. Craig, A. Vagnozzi, F. Vera, C. Techera, S. Grecco, A. Banda, D. Hernández, R. Pérez. Development of RT-qPCR assays for the specific identification of two major genotypes of avian infectious bronchitis virus. J. Virol. Methods. 2016. 235: 21–25. URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166093416300325?via%3Dihub.

ИНВАЗИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК: 619.616.993.192.615.084
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.116

ЭПИЗООТИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПИРОПЛАЗМИДОЗОВ (КРОВЕПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ) КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В СЕВЕРНЫХ РАЙОНАХ РЕСПУБЛИКИ КАРАКАЛПАКСТАН

Мавланов С.И. [1] – д-р ветеринар. наук, проф., зам. начальника отдела развития науки и образования (ORCID-0009-0003-7339-1962); **Отегенова Ш.К.** [2*] – докторант (ORCID-0009-0009-5076-052X)

[1] Государственный комитет ветеринарии и развития животноводства Республики Узбекистан
[2] Нукусский филиал Самаркандского государственного университета ветеринарной медицины, животноводство и биотехнологий

*otegenovashiyrin5@gmail.com

Ключевые слова: *эпизоотическая цепь,эритроцит,паразитарная реакция, тейлерия, сезонность,клещ,кровь,тейлериоз H.anatolicum,H.detritum.*

Keywords: *epizootic chain, erythrocyte, parasitic reaction, theileria, seasonality, tick, blood, theileriosis, Hyalomma anatolicum*, *Hyalomma detritum.*

Поступила: 08.09.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

На территории Республики Каракалпакстан эпизоотическая ситуация по кровепаразитарным заболеваниям крупного рогатого скота до настоящего времени недостаточно изучена. Кровепаразитарные заболевания крупного рогатого скота являются сезонными и совпадают с периодом активности иксодовых клещей, то есть с тёплым временем года. Согласно данным А.Г. Гафурова (2002), в последние годы во всех муниципальных районах республики отмечается высокая степень распространения иксодовых клещей. В статье изучено эпизоотологические особенности тейлериоза крупного рогатого скота в северных районах Республики Каракалпакстан, исследовано носительство возбудителей кровепаразитарных заболеваний у крупного рогатого скота, а также фауна клещей — переносчиков данного заболевания. Были взяты и проанализированы образцы мазков крови от больных животных. В результате исследования установлено, что в северных районах Республики Каракалпакстан клещи вида *Boophilus calcaratus* не обнаружены, в то время как клещи *Hyalomma anatolicum* — переносчики тейлериоза крупного рогатого скота — были выявлены с распространённостью до 61%, а *Hyalomma detritum* — до 39%. Из 567 голов крупного рогатого скота, обследованных в хозяйствах Ходжейлийского,

Бузатовского и Нукусского районов, 67 голов (то есть 11,8%) оказались заражёнными тейлериозом. По результатам паразитологических исследований мазков крови, взятых у крупного рогатого скота фермерского хозяйства «Исламбек-Зайнаб» Ходжейлийского района, в ЛПХ сельских жителей Нукусского района и в фермерском хозяйстве «Шахаманлы Асадбек» Бузатовского района, у 22,2% животных были обнаружены возбудители тейлериоза. Установлено, что в северных районах республики первая вспышка тейлериоза наблюдалась в конце мая (3,3%), а пик заболевания наблюдался в июле (7,6%).

ВВЕДЕНИЕ/INTRODUCTION

На территории Республики Каракалпакстан эпизоотическая ситуация по кровепаразитарным заболеваниям крупного рогатого скота до настоящего времени недостаточно изучена. Методы лечения и профилактики, разработанные ранее, в настоящее время устарели, а основные средства для лечения и профилактики подобных заболеваний выпускаются за рубежом. Хотя в нашей стране начато производство антипротозойных препаратов, в условиях интенсификации животноводства — в частности, с открытием новых животноводческих ферм, фермерских и личных подсобных хозяйств — в страну продолжают завозиться породистый и высокопродуктивный скот из-за рубежа. Однако такие животные обладают низкой устойчивостью к кровепаразитарным заболеваниям, что приводит к частым случаям заболеваемости и падежа.

Кровепаразитарные заболевания крупного рогатого скота являются сезонными и совпадают с периодом активности иксодовых клещей, то есть с тёплым временем года [5]. С началом весны заражённость крупного рогатого скота иксодовыми клещами увеличивается: в апреле данный показатель достигал 28,68%, в мае-65,07%, а в июне-43,75%. В жаркий период (июль–август) уровень заболеваемости среди животных снижался до 23,01%, однако в сентябре, особенно в октябре, наблюдался повторный рост заболеваемости до 48,48%. Начиная с ноября, этот показатель снижался до 19,68%, а в декабре-до 4,61%, что было подтверждено результатами исследований Ш. Абдурасулова [6].

Согласно данным А.Г. Гафурова (2002), в последние годы во всех муниципальных районах республики отмечается высокая степень распространения иксодовых клещей [7]. В свою очередь, это значительно увеличивает риск широкого распространения пироплазмидозов [1]. Кроме того, иксодовые клещи, нападая на животное, с ядовитыми веществами своей слюной вызывают интоксикацию организма. В месте укуса клеща возникает воспаление тканей, появляются язвы и раны, нередко наполненные личинками мух [2]. В результате животные теряют вес и отстают в развитии [4, 8].

Цель нашего исследования проведение мониторинга распространения кровепаразитарных заболеваний крупного рогатого скота в северных районах Республики Каракалпакстан на основе аналитических данных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Научно-исследовательские работы проводились в животноводческих фермах, личных подсобных и фермерских хозяйствах Ходжейлийского, Бузатовского и Нукусского районов Республики Каракалпакстан, а также в учебной лаборатории кафедры «Ветеринарная медицина и фармакология» Нукусского филиала Самаркандского государственного университета ветеринарной медицины, животноводства и биотехнологий.

В указанных регионах была изучена эпизоотическая ситуация по кровепаразитарным заболеваниям крупного рогатого скота. Для этого в первую очередь собирали данные анамнеза и анализировали их в сравнении с ветеринарными отчетами. Также была изучена фауна клещей - переносчиков заболеваний -и определена степень их распространённости.

Изучение сезонной динамики кровепаразитарных заболеваний крупного рога-

того скота проводилось на животных, содержащихся на пастбищах у сельского населения, а также в фермерских хозяйствах. Диагноз на заболевание устанавливали после выявления паразитарной реакции в мазках крови, взятых из периферических сосудов крупного рогатого скота с проявленными клиническими признаками болезни.

В результате паразитологических исследований мазков крови, взятых из периферических сосудов крупного рогатого скота с подозрением на заболевание, была изучена степень заражённости паразитами.С целью определения видов клещей — переносчиков болезни в исследуемых районах — клещей собирали непосредственно с тела животных. Видовую принадлежность клещей определяли по методу Б.И. Померанцева [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В северных районах Республики Каракалпакстан кровепаразитарное заболевание тейлериоз крупного рогатого скота широко распространено и наносит значительный экономический ущерб развитию животноводства. Согласно ветеринарным отчётам, экономический ущерб выражается в падеже заболевших животных, снижении их продуктивности, а также в затратах на лечение и профилактику заболевания и проведение ветеринарно-санитарных мероприятий.

Мониторинг распространения кровепаразитарных заболеваний крупного рогатого скота проводился среди животных, принадлежащих сельскому населению, а также в личных подсобных и фермерских хозяйствах. Для этого в первую очередь собирали анамнестические данные, которые анализировали и сопоставляли с ветеринарной отчётностью. Затем у крупного рогатого скота в каждом хозяйстве делали мазки крови из периферических сосудов и проводили паразитологические исследования.

В результате были выявлены случаи носительства паразитов у животных, определены виды клещей- переносчиков заболеваний и уровень их распространённости.

В летний сезон 2024 года, по результатам обследования хозяйств Ходжейлийского, Бузатовского и Нукусского районов, из 567 голов крупного рогатого скота 11,8% оказались заражены тейлериозом.

Результаты проведённых исследований по заражённости крупного рогатого скота тейлериозом в северных районах Республики Каракалпакстан приведены в таблице 1.

Согласно данным, представленным в таблице 1, в условиях Республики Каракалпакстан в 2024 году из общего количества обследованных 567 голов крупного рогатого скота у 67 голов был обнаружен возбудитель заболевания, что составило уровень заражённости 11,8%.В фермерском хозяйстве «Сайд» Ходжейлийского района из 125 обследованных голов крупного рогатого скота у 18 голов был выявлен возбудитель заболевания, уровень заражённости составил 14,4%.В фермерском хозяйстве «Палуанияз-Ниет», Нукусского района из 120 обследованных голов у 22 животных было выявлено наличие возбудителя, что составляет 18,3%.В фермерском хозяйстве «БКД-Даригул» Бузатовского района из 255 голов крупного рогатого скота у 27 животных был обнаружен возбудитель заболевания, что составляет уровень заражённости 10,5%.

В ходе изучения эпизоотической ситуации по кровепаразитарным заболеваниям крупного рогатого скота в северных районах Республики Каракалпакстан было установлено, что первая вспышка тейлериоза наблюдалась в конце мая (3,3%), а наибольший пик заболевания зарегистрирован в июле (7,6%).

Известно, что у крупного рогатого скота, переболевшего кровепаразитарными заболеваниями, возбудители болезни, утратившие свою инвазионную способность, могут сохраняться в организме в течение одного года. В связи с этим в организме формируется устойчивый иммунитет. В таких случаях клещи, паразитируя на теле животного, одновременно с этим могут поглощать паразитов, сохраняющихся в эритроцитах организма. На

следующей стадии своего развития, при укусе здорового животного, клещи передают этих паразитов, что способствует формированию и функционированию эпизоотической цепи. Исходя из этого, изучение носительства паразитов у животных, ранее переболевших кровепаразитарными болезнями, направлено на контроль эпизоотической ситуации.

Для изучения эпизоотической ситуации по кровепаразитарным заболеваниям крупного рогатого скота в фермерских хозяйствах и среди населения северных районов Республики Каракалпакстан в каждом обследуемом муниципальном районе были отобраны мазки крови из периферических сосудов у 30 голов крупного рогатого скота, и проведены паразитологические исследования (таблица 2).

Таким образом, по результатам проведённых исследований было установлено, что в северных районах Республики Каракалпакстан в среднем 20, до 22,2% мазков крови, отобранных у крупного рогатого скота, содержали тейлерий, поражающих эритроциты. При этом *B. bigeminum* в образцах не обнаружены. Одновременно было установлено, что в северных районах Республики Каракалпакстан первая вспышка тейлериоза наблюдалась в конце мая, а вторая — в июле (рисунок 1).

В результате проведённых исследований от больных животных были выделены штаммы паразитов крови и подвергнуты криоконсервации. Одновременно с этим у заражённых животных были собраны клещи- переносчики заболевания, которые были помещены на культивацию. Согласно литературным источникам, основную роль в распространении кровепаразитарных заболеваний крупного рогатого скота играют иксодовые клещи.

В связи с этим изучение фауны, степени распространённости и биологических особенностей клещей- переносчиков кровепаразитарных заболеваний в каждом регионе является одной из важнейших задач ветеринарной науки.

Исследования по изучению фауны клещей — переносчиков кровепаразитарных заболеваний крупного рогатого скота проводили в течение летнего сезона на животных, принадлежащих фермерским хозяйствам и сельскому населению Ходжейлийского, Чимбайского и Бузатовского районов Республики Каракалпакстан.

По результатам проведённых исследований, в фермерском хозяйстве «Исламбек-Зайнаб» было установлено заражение клещами *Hyalomma anatolicum* до 62,3% и *Hyalomma detritum* — до 41%. Клещи вида *Boophilus calcaratus* не были обнаружены (таблица 3).

Рисунок 1 – Сезонная динамика тейлериоза у крупного рогатого скота в северных районах Республики Каракалпакстан.

Таблица 1 – Распространённость кровепаразитарных заболеваний крупного рогатого скота в северных районах Республик Каракалпакстан

№	Муниципальные районы и название хозяйств	Общее поголовье крупного рогатого скота,гол.	Диагностирована болезнь							
			тейлериоз							
			Количество жив-х, гол.	%	май		июнь		июль	
					кол-во жив-х, гол	%	кол-во жив-х, гол	%	кол-во жив-х, гол	%
1	Фермерское хозяйство «Сайд», Ходжейлийский район	125	18	14,4	5	4,0	2	1,6	11	8,8
2	Фермерское хозяйство «Палуанияз-Ниет», Нукусский район	120	22	18,3	6	5,0	1	0,8	15	12,5
3	Фермерское хозяйство «БКД -Даригул», Бузатовский район	255	27	10,5	8	3,1	2	0,8	17	6,6
	Итого:	567	67	11,8	19	3,3	5	0,9	43	7,6

Таблица 2 – Результаты паразитологических исследований мазков крови, взятых у крупного рогатого скота в северных районах Республики Каракалпакстан

Муниципальные районы и название хозяйств	Количество обследованных животных,гол. (n)	Носительство паразитов в мазках крови, отобранных у 30 голов крупного рогатого скота	Количество заражённых мазков крови (n)	%
Фермерское хозяйство «Исламбек-Зайнаб», Ходжейлийский район	30	*Theileria annulata* *Babesia bigeminum*	7 -	**23,3** **-** **-**
Крупный рогатый скот сельского населения ЛПХ Нукусского района	30	*Th. annulata* *B.bigeminum*	8 -	**26,6**
Фермерское хозяйство «Шахаманлы Асадбек», Бузатовский район	30	*Th. annulata* *B.bigeminum*	5 -	**16,6**
Итого:	90	*Th. annulata* *B.bigeminum*	20 -	**22,2**

Таблица 3 – Фауна клещей-переносчиков кровепаразитарных заболеваний крупного рогатого скота в северных районах Республики Каракалпакстан

№	Муниципальные районы и название хозяйств	Количество обследованных животных (n), голов	H.anatolicum,		H.detritum, %	
			(n) голов	%	(n) голов	%
1	Фермерское хозяйство «Исламбек-Зайнаб», Ходжейлийский район	85	53	62,3	32	37,7
2	Фермерское хозяйство «Шахаманлы Асадбек», Бузатовский район	60	35	58,3	25	41,7
3	Крупный рогатый скот сельского населения ЛПХ«Майжап», Чимбайский район	53	33	62,3	20	37,7
	Итого:	198	121	61,0	77	39,0

	Ходжейлийский район	Бузатовский район "Шахаманлы Асадбек" ф/х	Крупный рогатый скот сельского населения ЛПХ«Майжап», Чимбайский район
B.calcaratus	0	0	0
H.anatolicum	62,3	58,3	62,3
H.detritum	37,7	41,7	37,7

Рисунок 2 – Фауна клещей — переносчиков кровепаразитарных заболеваний крупного рогатого скота в северных районах Республики Каракалпакстан.

Таким образом, в ходе наших исследований в северных районах Республики Каракалпакстан клещи *Boophilus calcaratus*, являющиеся переносчиками пироплазмоза и бабезиоза, не были выявлены.

В то же время заражённость крупного рогатого скота клещами *Hyalomma anatolicum* — переносчиками тейлериоза — среднем составила 61%, а заражённость клещами *Hyalomma detritum* — 39% (рисунок 2).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В ходе изучения эпизоотической ситуации по кровепаразитарным заболеваниям крупного рогатого скота в северных районах Республики Каракалпакстан в 2024 году было установлено, что первая вспышка тейлериоза наблюдалась в конце мая (3,3%), а наибольший пик — в июле (7,6%). При анализе распространения кровепаразитарных заболеваний среди 567 голов крупного рогатого скота в хозяйствах Ходжейлийского, Бузатовского и Нукусского районов было выявлено, что 11,8% животных заражены тейлериозом. Паразитологическое исследование мазков крови показало наличие тейлерий в 22,2% образцов.В северных районах Республики Каракалпакстан было зафиксировано заражение крупного рогатого скота клещами *Hyalomma anatolicum* до 61% и *Hyalomma detritum* до 39%.В ходе наших исследований клещи *Boophilus calcaratus* не были обнаружены.

EPIZOOTIC SITUATION OF PIROPLASMIDOSES (BLOOD-PARASITIC DISEASES) OF CATTLE IN THE NORTHERN REGIONS OF THE REPUBLIC OF KARAKALPAKSTAN

Mavlanov S.I.[1] – scientific director, doctor of veterinary sciences, professor (ORCID-0009-0003-7339-1962); **Otegenova S.K.**[2*] – doctoral student (ORCID-0009-0009-5076-052X)

[1] State committee for veterinary and livestock development of the republic of Uzbekistan

[2] Nukus branch of the Samarkand state university of veterinary medicine, animal husbandry and biotechnology

*otegenovashiyrin5@gmail.com

ABSTRACT

In the Republic of Karakalpakstan, the epizootic situation regarding blood-parasitic diseases in cattle has not yet been adequately studied. Blood-parasitic diseases in cattle are seasonal and coincide with the period of tick activity, that is, the warm season. According to A.G. Gafurov (2002), a high prevalence of ixodid ticks has been observed in all municipal districts of the republic in recent years.This article investigates the epizootiological status of theileriosis in cattle in the northern regions of the Republic of Karakalpakstan. The study examines the carrier state of blood-parasitic disease pathogens in cattle, as well as the fauna of ticks that serve as vectors of these diseases. Blood smear samples were collected from infected animals and analyzed. The results of the study revealed that *Boophilus calcaratus* ticks were not found in the surveyed areas, whereas *Hyalomma anatolicum* — the main vector of cattle theileriosis — was identified with a prevalence of up to 61%, and *Hyalomma detritum* up to 39%. Among 567 head of cattle examined in farms located in the Khodjeyli, Buzatov, and Nukus districts, 67 animals (11.8%) were diagnosed with theileriosis. Parasitological analysis of blood smears from cattle in the "Islambek-Zaynab" farm (Khodjeyli district), among rural residents of the Nukus district, and in the "Shakhamanly Asadbek" farm (Buzatov district) showed the presence of theileria pathogens in 22.2% of the animals. It was also established that the first recorded outbreak of theileriosis in the northern regions of the republic occurred at the end of May (3.3%), with the peak incidence observed in July (7.6%).

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Гафуров, А.Г. Мониторинг распространения и предотвращения особо опасных болезней животных и птиц: сб. материалов 4-ой междунар. науч. конф. – Самарканд, 2011. С. 66–69.
2. Чиров, П.А. Крупный рогатый скот – прокормитель иксодовых клещей в Нижнем Поволжье / П.А. Чиров, Е.Д. Фомичева // Тез. докл. Всерос. научн. конф. «Взаимоотношения паразита и хозяина». - М., 1998. - С. 74.
3. Ғафуров А.Ғ.Қорамол қон-паразитар касалликлари.Зооветеринария 2017-23-24
4. Акбаев, М.Ш. Методы борьбы с гнусом и иксодовыми клещами в хозяйствах Рязанской области / М.Ш. Акбаев, Ф.И. Василевич, Р.М. Акбаев, Н.А. Малофеева, А.И. Цыпляев, В.Н. Шабатин // Ветеринария. - 2004. - №10. – С. 29-31.
5.Баратов Ж.Н., Ғойибназаров Қ.Х., Гафуров А.Г. Жиззах вилояти ҳудудларида пироплазмидозларни тарқатувчи каналар фаунаси // Veterinariya meditsinasi. 2022. - № 1. –Б. 15-19.
6.Абдурасулов Ш. Эпизоотологические аспекты пироплазмидозов в Узбекистане // Veterinariya tibbiyoti. 2018. -№ 1. – С. 23-24.
7.Гафуров, А.Г. Пироплазмидозы крупного рогатого скота и перспективы развития науки в Узбекистане / А.Г. Гафуров // Вестник ветеринарии. - 2002. - № 24 (3/2002). - С. 15-16.
8. Подборонов, В.М. Защитные механизмы иксодоидных клещей и их прокормителей // В.М. Подборонов, А.Б. Бердыев. - Ашхабад, 1991. – 239 с
9. Померанцев Б.И. Морфологический Очерк. Паукообразные//-Ленинград: АНСССР.1950. Т.4. №2. С.34-39.

REFERENCES

1. Gafurov, A.G. (2011). Monitoring of the spread and prevention of especially dangerous diseases in animals and birds. Collection of materials of the 4th International Scientific Conference. Samarkand, pp. 66–69.
2. Chirov, P.A., Fomicheva, E.D. (1998). Cattle as a feeder of ixodid ticks in the Lower Volga region. Abstracts of the All-Russian Scientific Conference “Interactions between parasite and host.” Moscow, p. 74.
3. Gafurov, A.G'. (2017). Blood-parasitic diseases of cattle. Zooveterinariya, pp. 23–24.
4. Akbaev, M.Sh., Vasilevich, F.I., Akbaev, R.M., Malofeeva, N.A., Tsyplyaev, A.I., Shabatin, V.N. (2004). Methods of controlling gnats and ixodid ticks in the farms of Ryazan region. Veterinariya, (10), pp. 29–

31.
5. Baratov, Zh.N., Ghoibnazarov, Q.Kh., Gafurov, A.G. (2022). Fauna of ticks transmitting piroplasmidoses in Jizzakh region. Veterinariya Meditsinasi, (1), pp. 15–19.
6. Abdurasulov, Sh. (2018). Epizootiological aspects of piroplasmidoses in Uzbekistan. Veterinariya Tibbiyoti, (1), pp. 23–24.
7. Gafurov, A.G. (2002). Piroplasmidoses of cattle and prospects for scientific development in Uzbekistan. Vestnik Veterinarii, (24) 3/2002, pp. 15–16.
8. Podboronov, V.M., Berdyev, A.B. (1991). Protective mechanisms of ixodid ticks and their hosts. Ashgabat, p. 239.
9. Pomerantsev, B.I. (1950). Morphological overview. Arachnids. Leningrad: Academy of Sciences of the USSR, Vol. 4, No. 2, pp. 34–39.

УДК: 616.993:636.39(470.23+25)
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2025.4.125

АНАЛИЗ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ ОБСТАНОВКИ ПО ПАРАЗИТОЗАМ КОЗ В КРЕСТЬЯНСКО-ФЕРМЕРСКИХ И ЛИЧНЫХ ПОДСОБНЫХ ХОЗЯЙСТВАХ ЛЕНИНГРАДСКОЙ И ПСКОВСКОЙ ОБЛАСТЕЙ

Самойлова Д.С.* – асп. каф. паразитологии им В. Л. Якимова (ORCID 0009-0000-4449-7176)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*dasha.samoilova2002@mail.ru

Ключевые слова: *козы, гельминтозы, протозоозы, эпизоотическая обстановка, Ленинградская область, Псковская область.*

Key words: *goats, helminthiasis, protozoosis, epizootic situation, Leningrad region, Pskov region.*

Поступила: 24.08.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

В статье представлен анализ эпизоотической обстановки по паразитозам коз в 4-х крестьянско-фермерских хозяйствах (КФХ) и одном личном подсобном хозяйстве (ЛПХ) нескольких районов Ленинградской области (Лужский, Сестрорецкий, Гатчинский) и Псковского района Псковской области. Обследовано 127 коз разных возрастных групп и пород (альпийская молочная, зааненская, чешская бурая, русская бурая, нубийская). Методом флотации по Дарлингу с применением универсальной флотационной жидкости и гельминтоларвоскопическим по Берману-Орлову у коз в КФХ Лужского района и ЛПХ Сестрорецкого района Ленинградской области инвазии гельминтами и простейшими не выявили. Регулярной дегельминтизацией и организацией грамотной системы содержания и кормления животных в данных хозяйствах достигнут стабильный и эффективный контроль инвазий. В двух хозяйствах Гатчинского района Ленинградской области и в КФХ Псковского района Псковской области установлена инвазия коз гельминтами и простейшими р. *Eimeria*. В КФХ Гатчинского района ЭИ эймериями варьировалась от 73,3% до 100%. У коз возрастом до 2-х лет ИИ составляла до 1710 ооцист в 1гр. фекалий. Обнаруженные ооцисты были различных размеров и формы, что свидетельствовало об инвазии несколькими видами данного рода кокцидий. При исследовании методом Бермана-Орлова выявлены личинки и яйца из родов *Strongyloides* и *Mullerius*, а также в одном из хозяйств стронгилята органов дыхания р. *Dictyocaulus*. В КФХ Псковского района Псковской экстенсивность и интенсивность эймериозной инвазии коз была меньше, чем в хозяйствах Ленинградской области (ЭИ 26%, ИИ до 342 ооцист в 1 гр. фекалий), однако все животные были инвазированы нематодами. В пробах фекалий коз обнаружили свободноживущие

личинки нематод из р. *Strongyloides*, а также яйца и личинки стронгилят органов пищеварения. С целью разработки научно обоснованных мер борьбы с паразитарными болезнями в частных фермерских хозяйствах необходимо регулярно проводить анализ паразитарной ситуации.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Благодаря разнообразию продукции, козоводство занимает значимое место в товарной сфере, предлагая мясо, молоко, шерсть, пух и кожи. Средний удой с одной молочной козы составляет 500 кг за лактацию (9 -10 месяцев), а у высокопродуктивных животных может достигать до 1 тонны [8]. Козье молоко обладает диетическими и лечебными свойствами, что делает его ценным сырьём для детского питания, сыроварения, фармацевтики, косметики и пищевых добавок. Несмотря на наличие в различных регионах и странах крупных козоводческих предприятий, отрасль развивается преимущественно за счёт личных подсобных и крестьянско-фермерских хозяйств [2, 9, 10].

В ряде случаев снижают рентабельность производства инвазионные болезни животных, которые негативно влияют на их здоровье и продуктивность [3, 5, 7]. Данная проблема актуальна для различных регионов, активно занимающихся козоводством, в том числе и Северо-Западного. Ряд исследователей отмечают, что для возникновения и распространения гельминтозов и протозоозов среди коз должен быть ряд причин [7, 9, 10]. Основными факторами, способствующими распространению гельминтозов, являются интенсивное, нерациональное и бесконтрольное использование пастбищ, климатические особенности региона, широкий видовой состав и разнообразие возбудителей гельминтозов. Дополнительным осложняющим фактором является развитие у гельминтов резистентности к антигельминтным препаратам различных классов. Это явление существенно затрудняет проведение эффективных профилактических и лечебных мероприятий, способствуя появлению и распространению устойчивых форм паразитов [3, 4, 6].

Для сдерживания распространения инвазий необходим регулярный мониторинг эпизоотической ситуации. Важно выявлять факторы, составляющие эпизоотическую цепь, в которой возбудители переходят от больных животных или паразитоносителей к здоровым через характерный для них механизм передачи.

Целью данного исследования стало изучение распространения гельминтозов и протозоозов у коз в козоводческих крестьянско-фермерских и личных подсобных хозяйствах Ленинградской и Псковской областей.

Для достижения поставленной цели необходимо было выявить распространенность эндопаразитов у коз в козоводческих хозяйствах, определить родовую принадлежность возбудителей, проанализировать условия содержания животных, ветеринарные лечебно-профилактические мероприятия и определить связь факторов, составляющих эпизоотическую цепь, с распространением инвазий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Обследование коз проводили в 4-х крестьянско-фермерских хозяйствах (КФХ) и одном личном подсобном хозяйстве (ЛПХ) в нескольких районах Ленинградской области (Лужский, Сестрорецкий, Гатчинский) и в Псковской области в Псковском районе. Всего было обследовано 127 коз разных возрастных групп и пород (альпийская молочная, зааненская, чешская бурая, русская бурая, нубийская).

Для копрологического исследования у животных отобрали пробы фекалий из прямой кишки и подстилки сразу после дефекации, помещали в контейнер для сбора биоматериалов. При транспортировке биоматериала в лабораторию в контейнере поддерживали температурный режим от 0 до +4°С. Копрологическое исследование проводили в лаборатории по изучению паразитарных болезней при кафедре паразитологии им В.Л. Якимова ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский госу-

дарственный университет ветеринарной медицины».

Каждую пробу фекалий делили на две части. Первую часть исследовали методом флотации по Дарлингу с применением универсальной флотационной жидкости [1]. Вторую часть фекальных масс исследовали гельминтоларвоскопическим методом по Берману-Орлову.

Определение обнаруженных яиц гельминтов, личинок, ооцист эймерий проводили по методу световой микроскопии при помощи микроскопа Primo Star Zeizz (Германия) при увеличении 40х, 100х и 400х.

Оценивали экстенсивность инвазии (ЭИ) в каждом хозяйстве, рассматривали факторы, способствующие распространению паразитозов. Интенсивность инвазии (ИИ) устанавливали подсчетом яиц и ооцист паразитов в камере ВИГИС при увеличении 40х.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В КФХ, расположенном в Лужском районе Ленинградской области, содержится 20 коз зааненской породы. Содержание коз привязное с выгулом два раза в сутки круглогодично на огороженных приспособленных площадках. Кормление животных осуществляется покупными грубыми кормами (сено) с добавлением концентрированных кормов два раза в сутки. Запасы корма (не на длительный срок) хранятся на открытых площадках под навесами на территории хозяйства. Дегельминтизация осуществляется раз в 4 -5 месяцев препаратами на основе эприномектина или альбендазола по инструкции.

По результатам копрологических исследований гельминтов и простейших у коз в данном КФХ обнаружено не было.

В Гатчинском районе нами было обследовано два КФХ. В первом хозяйстве содержится 30 коз возрастом от 1 месяца до 7 лет, различных пород (альпийская молочная, чешская бурая, нубийская породы). На ферме практикуется круглогодичное стойлово-выгульное содержание животных без разделения на половозрастные группы. Пастбища открытые и не окультурены на протяжении многих лет. Основу рациона животных в летний период составляет зеленая трава, листья с деревьев, яблоки, а в зимний – грубый корм (сено и силос). Запасы корма хранятся в закрытых деревянных помещениях. Дегельминтизация в данных хозяйствах производится раз в 6 месяцев препаратом на основе эприномектина.

В ходе проведения копрологических исследований с применением метода Дарлинга у животных различных половозрастных групп была выявлена в 100% случаев инвазия ооцистами р. *Eimeria.* У коз возрастом до 2-х лет насчитывали от 798 до 1710 ооцист в 1 гр. фекалий. У животных от 2-х до 7 лет интенсивность инвазии была меньше (от 456 до 684 ооцист в 1 гр. фекалий).

При исследовании проб фекалий гельминтоларвоскопическим методом Бермана-Орлова у 22 животных из 30 (73,3%) были выявлены яйца стронгилят, личинки нематод р. *Strongyloides* и стронгилята органов дыхания р. *Mullerius.* Из общего числа инвазированных животных 10 коз были моложе 2-х лет и 12 – от 2-х до 7 лет.

Во втором КФХ Гатчинского района содержится 12 коз разных пород (альпийская молочная, чешская бурая, нубийская породы) возрастом от 2-х до 10 лет. Животные находятся на круглогодичном стойлово-выгульном содержании без разделения на половозрастные группы. В период отдыха или осадков животные находятся в деревянном помещении на глубокой несменяемой подстилке. Как и в первом хозяйстве этого района – выпас коз осуществляется на не окультуренном пастбище. Основу рациона животных в летний период составляет зеленая трава, листья с деревьев, яблоки, а в зимний – грубый корм (сено и силос). Запасы корма хранятся в закрытых деревянных помещениях. Дегельминтизация осуществляется раз в 6 месяцев – 1 год одним и тем же препаратом.

В ходе исследования проб фекалий методом Дарлинга у всех 12 обследованных коз (100%) были выявлены ооцисты

р. *Eimeria* (от 570 до 1590 ооцист в 1 гр. фекалий) различных размеров и формы, что свидетельствовало об инвазии несколькими видами данного рода кокцидий.

При исследовании методом Бермана-Орлова выявлены личинки и яйца из родов *Strongyloides u Mullerius*. У 2-х из 12-ти животных была зафиксирована инвазия стронгилятами органов дыхания р. *Dictyocaulus.*

В Сестрорецком районе обследовали личное подсобное хозяйство, которое представляет собой небольшой участок, где содержится 15 коз зааненской и альпийской молочной породы. Животные находятся в огороженном пространстве на сменной подстилке. Содержание животных преимущественно стойловое с разделением по возрасту и полу. На территории фермы находится небольшая выгульная площадка, на которую доступ других животных невозможен. Кормление осуществляется профессиональными кормами, предназначенными для мелкого рогатого скота. Дегельминтизация осуществляется раз в 2-3 месяца с периодической ротацией антигельминтных препаратов.

По результатам копрологических исследований гельминтов и простейших у коз в этом хозяйстве не обнаружено.

В КФХ, расположенном в Псковском районе Псковской области, содержится 50 коз нубийской породы. Ферма открытого типа. Содержание коз беспривязное с выгулом два раза в сутки на огороженных приспособленных площадках. Кормление животных осуществляется грубыми кормами (сено) с добавлением концентрированных кормов два раза в сутки. Дегельминтизация осуществляется раз в 4 месяца препаратами на основе альбендазола.

Методом Дарлинга была выявлена инвазия ооцистами р. *Eimeria* у животных всех возрастных групп. ЭИ составила 26%. ИИ составила от 304 до 342 ооцист в 1 гр. фекалий.

В ходе исследования, выполненного с применением гельминтоларвоскопического метода Бермана-Орлова, у 100% исследуемых коз была выявлена микстинвазия несколькими видами нематод. В пробах фекалий обнаруживали свободноживущие личинки нематод из р. *Strongyloides*, а также яйца и личинки стронгилят, паразитирующих в органах пищеварительного тракта.

Количество инвазированных гельминтами и эймериями коз в обследованных хозяйствах представлено в таблице 1.

Таблица1 – Распространение эндопаразитов коз в КФХ и ЛПХ хозяйствах Ленинградской и Псковской областей

Область, район	Кол-во обследуемых животных	Гельминтозы		Протозоозы	
		Кол-во инвазированных	ЭИ%	Кол-во инвазированных	ЭИ, %
КФХ, Лужский р-н, Ленинградская обл.	20	0	0	0	0
КФХ 1, Гатчинский р-н, Ленинградская обл.	30	22	73,3	30	100
КФХ 2, Гатчинский р-н, Ленинградская обл.	12	12	100	12	100
ЛПХ, Сестрорецкий р-н, Ленинградская обл.	15	0	0	0	0
КФХ, Псковский р-н, Псковская обл.	50	50	100	13	26

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Копрологическими исследованиями у коз в одном КФХ Лужсккого района и ЛПХ Сестрорецкого района Ленинградской области инвазии гельминтами и простейшими не выявили. В двух хозяйствах Гатчинского района Ленинградской области и в КФХ Псковского района Псковской области установлена инвазия коз гельминтами и простейшими р. *Eimeria.*

В КФХ Гатчинского района ЭИ эймериями варьировалась от 73,3% до 100%. У коз возрастом до 2-х лет ИИ составляла до 1710 ооцист в 1гр. фекалий. Обнаруженные ооцисты были различных размеров и формы, что свидетельствовало об инвазии несколькими видами данного рода кокцидий.

При исследовании методом Бермана-Орлова выявлены личинки и яйца из родов *Strongyloides и Mullerius,* а также в одном из хозяйств стронгилята органов дыхания р. *Dictyocaulus.*

В КФХ Псковского района Псковской области была установлена у коз схожая паразитофауна. Экстенсивность и интенсивность эймериозной инвазии коз была меньше, чем в хозяйствах Ленинградской области (ЭИ 26%, ИИ до 342 ооцист в 1 гр. фекалий), однако все животные были инвазированы нематодами. В пробах фекалий коз обнаруживали свободноживущие личинки нематод из р. *Strongyloides*, а также яйца и личинки стронгилят, паразитирующих в органах пищеварительного тракта.

Анализ паразитарной ситуации в хозяйствах КФХ Лужского и Сестрорецкого районов Ленинградской области показывает, что при условии регулярной дегельминтизации и организации грамотной системы содержания и кормления достигнут стабильный и эффективный контроль инвазий. Отсутствие паразитов в данных хозяйствах свидетельствует о высокой эффективности санитарно-профилактических мер и системы кормления. Выгул на специально оборудованных площадках минимизирует контакт с возможными источниками инвазии. Тем не менее, анализ паразитарной ситуации требует постоянного мониторинга, поскольку условия и паразитарная нагрузка могут изменяться.

В хозяйствах Гатчинского района высокая распространённость кокцидий указывает на отсутствие эффективных лечебно-профилактических мероприятий против кокцидиозов. Накопление расселительных стадий кокцидий во внешней способствует сохранению и распространению инвазии. Совместное содержание молодняка и взрослого поголовья приводит к инвазированию козлят с первых дней жизни, так как именно эта возрастная группа наиболее подвержена заражению эймериями. У взрослых животных наблюдается снижение количества ооцист, у них отсутствуют клинические признаки инвазии, но они остаются главным источником инвазии.

Высокий уровень гельминтозной нагрузки свидетельствует о недостаточной эффективности схем дегельминтизации животных, применяемых в данных хозяйствах. Длительное использование одних и тех же препаратов способствует развитию резистентности, а недостаточная регулярность дегельминтизаций увеличивает риск устойчивости паразитов.

С целью разработки научно обоснованных мер борьбы с паразитарными болезнями в частных фермерских хозяйствах необходимо проводить анализ паразитарной ситуации, который включает изучение качественного и количественного состава фауны паразитов, характера их размещения в биоценозах, а также особенностей среды, влияющих на численность паразитов и механизмы передачи возбудителей.

ANALYSIS OF THE EPIZOOTIC SITUATION OF GOAT PARASITOSES IN PEASANT AND PRIVATE SUBSIDIARY FARMS OF LENINGRAD AND PSKOV REGIONS

Samoylova D.S.* – Postgraduate student, Department of Parasitology named after V. L. Yakimov (ORCID)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*dasha.samoilova2002@mail.ru

ABSTRACT

The article presents an analysis of the epizootiological situation regarding parasitic infections in goats across four family farms and one personal subsidiary farm in several districts of Leningrad Oblast (Luga, Sestroretsk, Gatchina) and Pskov District in Pskov Oblast. A total of 127 goats of various age groups and breeds (Alpine dairy, Saanen, Czech brown, Russian brown, Nubian) were examined. Using the Darling flotation method with a universal flotation solution and the Berman-Orlov helmintholarscopic method, no helminth or protozoan infestations were detected in the goats from the family farms in the Luga district and the personal subsidiary farm in the Sestroretsk district of Leningrad Oblast. Regular deworming and the establishment of a proper management and feeding system for the animals in these farms have achieved stable and effective control of infestations. In two farms in the Gatchina district of Leningrad Oblast and in the family farm in Pskov district of Pskov Oblast, infestations of goats with helminths and protozoa of the genus Eimeria were found. In the family farm in Gatchina district, the Eimeria infection rate varied from 73.3% to 100%. For goats aged up to two years, the infection intensity reached up to 1710 oocysts per gram of feces. The identified oocysts varied in size and shape, indicating an infestation by several species of this genus of coccidia. Using the Berman-Orlov method, larvae and eggs from the genera *Strongyloides* and *Mullerius* were detected, as well as in one of the farms, lung strongyles of the genus *Dictyocaulus*. In the family farm in Pskov district, the extent and intensity of Eimeria infestation in goats were lower than in the farms of Leningrad Oblast (extent 26%, intensity up to 342 oocysts per gram of feces); however, all animals were infested with nematodes. In the fecal samples from goats, free-living nematode larvae from the genus *Strongyloides* were found, as well as eggs and larvae of gastrointestinal strongyles. To develop scientifically grounded measures to combat parasitic diseases in private farms, it is essential to regularly conduct an analysis of the parasitic situation, which includes studying the qualitative and quantitative composition of the parasite fauna, their distribution patterns in biocenoses.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Белова, Л. М. Новая универсальная флотационная жидкость для комплексных лабораторных исследований / Л. М. Белова, Н. А. Гаврилова, Д. Н. Пудовкин // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2012. – № 4-1. – С. 15-17.

2.Белова, Л. М. Оценка эффективности противопаразитарных обработок коз в фермерском хозяйстве Ленинградской области / Л. М. Белова, Н. А. Гаврилова // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2023. – № 2(58). – С. 39-42.

3.Клинический случай мониезиоза у козы породы Камори / Л. М. Белова, Н. А. Гаврилова, М. Г. Роберман, В. А. Ширяева // Современные проблемы общей и частной паразитологии: материалы IV Международного паразитологического симпозиума, Санкт-Петербург, 07–09 декабря 2022 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2022. – С. 32-34.

4.Гаврилова, Н. А. Эндопаразитофауна коз в частных фермерских хозяйствах Алматинской области (Юго-Восточный Казахстан) / Н. А. Гаврилова, Л. М. Белова, Д. С. Самойлова // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2025. – № 1 (65). – С. 54-58.

5.Ефремов А. Ю. Особенности гельминтозов крупного рогатого скота и овец в Калининградской области // Российский паразитологический журнал. 2016. №3 (37).

6.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.

7.Логинова, О. А. Гельминтозы крупного

и мелкого рогатого скота в Северо-западном регионе и меры борьбы: специальность 03.02.11 "Паразитология": автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук / Логинова Ольга Александровна. – Санкт-Петербург, 2017. – 21 с.
8.Федеральная служба государственной статистики [Электронный ресурс]. Дата обращения: https://rosstat.gov.ru
9.Ятусевич, А. И. Эндопаразитарные системы коз в условиях формирования новых направлений в козоводстве / А. И. Ятусевич, И. С. Касперович, Х. Б. Юнусов // Актуальные проблемы лечения и профилактики болезней молодняка: Материалы Международной научно-практической конференции, Витебск, 03–05 ноября 2021 года / Редколлегия: Н.И. Гавриченко (гл. Ред.) [и др.]. – Витебск: Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины ", 2021. – С. 180-184.
10.Ятусевич, А. И. Эймериоз коз и меры борьбы с ним / А. И. Ятусевич, И. С. Касперович, А. Д. Касперович; Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск: Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины ", 2022. – 152 с.

REFERENCES

1. Belova, L. M., Gavrilova, N. A., & Pudovkin, D. N. (2012). A new universal flotation fluid for complex laboratory research. Issues of Normative Legal Regulation in Veterinary Medicine, 4-1, 15-17.
2. Belova, L. M., & Gavrilova, N. A. (2023). Evaluation of the effectiveness of antiparasitic treatments of goats on a farm in the Leningrad region. Topical Issues of Veterinary Biology, 2(58), 39-42.
3. Belova, L. M., Gavrilova, N. A., Roberman, M. G., & Shiryaeva, V. A. (2022). Clinical case of monieziosis in a Kamori goat. Modern Problems of General and Special Parasitology: Proceedings of the IV International Parasitological Symposium, St. Petersburg, December 07–09, 2022. St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 32-34.
4. Gavrilova, N. A., Belova, L. M., & Samoilova, D. S. (2025). Endoparasite fauna of goats in private farms of Almaty region (South-Eastern Kazakhstan). Actual Issues of Veterinary Biology, 1(65), 54-58.
5. Efremov, A. Yu. (2016). Features of helminthiasis of cattle and sheep in the Kaliningrad region. Russian Journal of Parasitology, 3(37).
6. Zabrovskaya, A. V., Belova, L. M., & Gavrilova, N. A. (2023). Helminth resistance to anthelmintics: mechanism, detection methods, ways to prevent resistance. Actual Issues of Veterinary Biology.
7. Loginova, O. A. (2017). Helminthiasis of large and small cattle in the North-Western region and control measures [Abstract of candidate dissertation, Saint Petersburg].
8. Federal State Statistics Service [Electronic resource]. Accessed: https://rosstat.gov.ru
9. Yatusevich, A. I. Endoparasitic systems of goats in the conditions of formation of new directions in goat breeding / A. I. Yatusevich, I. S. Kasperovich, Kh. B. Yunusov // Actual problems of treatment and prevention of diseases of young animals: Materials of the International Scientific and Practical Conference, Vitebsk, November 03–05, 2021 / Editorial board: N.I. Gavrichenko (Editor-in-Chief) [et al.]. – Vitebsk: Educational Institution "Vitebsk Order of the Badge of Honor State Academy of Veterinary Medicine", 2021. – pp. 180-184.
10. Yatusevich, A. I. Coccidiosis of goats and measures to combat it / A. I. Yatusevich, I. S. Kasperovich, A. D. Kasperovich; Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine. – Vitebsk: Educational Institution "Vitebsk Order of the Badge of Honor State Academy of Veterinary Medicine", 2022. – 152 p.

УДК: 616.995.132-07-085:636.7
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2025.4.132

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ СОБАКИ ПРИ ДИОКТОФИМОЗЕ (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ)

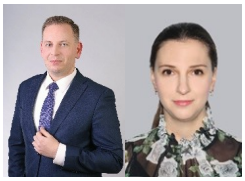
Кузнецов Ю.Е. * – д-р ветеринар. наук, доц., зав. каф. паразитологии им В.Л. Якимова (ORCID 0000-0001-9095-7049); **Кузнецова Н.В.** – канд. ветеринар. наук, доц. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-3149-1557)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*fish2017@yandex.ru

Ключевые слова: *диоктофимоз, плотоядные, гельминтозы, мониторинг, гематурия, УЗИ, моча, почки, оперативное лечение.*
Key words: *dioctophimosis, carnivores, helminthiasis, monitoring, hematuria, ultrasound, urine, kidneys, surgical treatment.*

Поступила: 24.08.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025



РЕФЕРАТ

В России случаи заражения *D. renale* регистрируются, но они относительно редки. Вид *D. renale* достигает в длину у самок до 1 метра и поражает, как правило, правую почку плотоядных, диких и домашних млекопитающих. Болезнь характеризуется поражением почек, почечных лоханок и общей интоксикацией организма. В данной статье описан клинический случай диагностики диоктофимоза и лечения собаки в возрасте 3 лет, привезенной из Республики Казахстан в г. Москву. Собака была помещена в ветеринарную клинику в декабре 2024 года с признаками задержки мочи и присутствия в ней крови. Для уточнения диагноза выполнены лабораторные исследования, которые включали в себя общий анализ мочи, общий и биохимический анализы крови, а также проведено ультразвуковое исследование почек. Результаты анализа крови показали нарушение функции почек. Анализ мочи выявил гематурию, а также яйца гельминтов вида *D. renale*. Проведено ультразвуковое исследование почек, подтвердившее наличие гельминтов в почечной лоханке. Диагноз на диоктофимоз подтвержден результатами прижизненной лабораторной диагностики – фотографий характерных яиц паразита. В качестве антигельминтных препаратов пациенту были назначены фенбендазол и ивермектин. Единственным средством лечения собак при диоктофимозе является хирургическое вмешательство и удаление диоктофимы из пораженного органа (почки). Данные УЗИ, которые подтвердили наличие половозрелых особей гельминта *D.renale* в правой почке, послужили основанием для проведения односторонней нефрэктомии. Состояние прооперированного пациента удовлетворительное, прогноз после операции благоприятный.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Возбудитель *Dioctophyme renale* (Goeze, 1782) относится к сем. Dioctophymatidae, отряда Dioctophymata, и вызывает зоонозную паразитарную болезнь диоктофимоз. *Вид D. renale,* также известный, как гигантская почечная нематода, достигает в длину у самок до 1 метра и поражает, как правило, правую почку плотоядных, диких и домашних млекопитающих. Болезнь характеризуется поражением почек, почечных лоханок и общей интоксикацией организма [6, 9].

В России случаи заражения *D. renale* регистрируются, но они относительно редки. На севере Западной Сибири в зоне вечной мерзлоты в результате паразитологического исследования 29 проб копролитов собак из культурного слоя и навоза из раскопок Мангазеи в 26 (89,66%) пробах были обнаружены яйца гельминтов, среди них было 5 яиц нематоды *D. renale* (4,17%). По словам авторов, обнаружение яиц гигантского почечного червя в культурном слое Мангазеи, может объясняться завозом его жителями с собаками из Подмосковья и северных регионов России, где находились природные очаги диоктофимоза, существующие и в настоящее время. Расширению ареала этого паразита способствовала миграция населения [11].

Наиболее часто диоктофимоз регистрируется в регионах с обилием пресноводных водоемов. На Дальнем Востоке у 190 волков было выявлено паразитирование нематоды *D. renale* с интенсивностью 1-12 паразитов и экстенсивностью 18,5% на всей территории Приморья и Приамурья [3].

На территории Центральной России (Ивановская, Владимирская, Костромская, Рязанская, Ярославская и другие области) в 1998-2007 гг. у лисиц было выявлено 25 видов возбудителей инвазионных болезней, в том числе *D. renale* [1, 2, 7, 8].

В Приморье основными окончательными хозяевами диоктофимов являются волки, соответственно, в Приморье зона заражения людей должна совпадать с их ареалом – это, в основном, озеро Ханка и река Уссури [4].

В Алматы, согласно статистике ветеринарных клиник, за последние годы (2018-2019) зарегистрировано 17 случаев диоктофимоза у собак, что составляет до 0,3% от общего числа случаев [10].

Единственным способом постановки окончательного диагноза является выявление яиц *D. renale* в моче зараженного животного. Диагностика, как правило, основывается на данных морфологии, визуализации и тестирования на антитела, при этом хирургическое лечение является наиболее эффективным [5, 12].

Сотрудники службы спасения животных были проинформированы о целях и методах диагностики и дали письменное добровольное согласие на проведение всех процедур.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Для уточнения диагноза выполнены лабораторные исследования, которые включали в себя общий анализ мочи, общий и биохимический анализы крови. В дальнейшем пациенту было назначено ультразвуковое исследование почек, которое и выявило наличие половозрелых паразитов *D. renale* в правой почечной лоханке.

Отбор крови производили из подкожной вены предплечья в пробирки с антикоагулянтами (К3-ЭДТА) и без антикоагулянта для получения сыворотки.

Гематологические исследования (общий и биохимический анализы крови) проводили на анализаторах Mindray Animal Care BC-5000 Vet и MNCHIP Veterinary Chemistry Analyzer Pointcare V3. Мочу собирали путем цистоцентеза под контролем УЗИ для исключения контаминации.

Ультразвуковое исследование выполнено на УЗИ-аппарате Sonoscare P9V линейными и микроконвексным датчиками (7-12 МГц). Клинический анализ мочи проводили с помощью ветеринарного мочевого анализатора UC-32A (Vet), с применение тест-полосок VET-Urit 13.

Микроскопию мочи проводили после центрифугирования пробы при 1500 об/мин в течение 5 минут. Осадок исследовали под световым микроскопии Микмед-6 при малом (х100) и большом (х400) увеличении.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ / RESULTS AND DISCUSSION

Пациент, собака метис по кличке Лара, в возрасте 3 лет, с массой тела 28 кг, должна была погибнуть при отлове в Республике Казахстан, но, благодаря службе спасения животных, была доставлена в Россию, в г. Москву. Собака была помещена в ветеринарную клинику в декабре 2024 года с признаками задержки мочи и присутствия в ней крови. На первичном приеме увеличение мочевого пузыря легко определялось при пальпации. Моча выделялась по каплям, иногда с примесями крови.

При клиническом обследовании животного были выявлены признаки умеренной дегидратации, гиперемии видимых слизистых оболочек. Температура оставалась в пределах нормы.

В результате лабораторного исследования крови больного животного был выявлен лейкоцитоз с нейтрофильным сдвигом влево, а также наличие анизоцитоза и микроцитоза (таблица 1).

Из таблицы 2 очевидно, что у собаки наблюдалась выраженная почечная недостаточность, на которую указывала концентрация креатинина в крови (407 мкмоль/л), также отмечалась интенсивная гематурия.

Таблица 1 – Гематологические показатели крови собаки

Показатели крови	Показатели пациента	Референсные значения
Эритроциты, 10^{12}/л	6,78	5,4 – 7,8
Тромбоциты, 10^{9}/л	540	250 – 550
Гематокрит, %	32,7	37 – 54
Гемоглобин, г/л	93,4	130 – 190
MCV (средний объем эритроцитов), fl	63,7	64 – 74
MCH (среднее содержание гемоглобина в эритроците), pg	22,5	22 – 27
Лейкоциты, 10^{9}/л	16,8	7 – 12
Нейтрофилы палочкоядерные, %	85	0 – 4
Нейтрофилы сегментоядерные, %		60 – 78
Лимфоциты, %	13	12 – 30
Эозинофилы, %	0	2 – 10
Моноциты, %	2	3 – 9
Базофилы, %	0	0 – 1

Таблица 2 – Биохимические показатели крови собаки

Показатели крови	Показатели пациента	Референсные значения
Мочевина, ммоль/л	24	3,5 – 10,7
Креатинин, мкмоль/л	407	До 140
Мочевая кислота, ммколь/л	88	60 – 120
Общий белок, г/л	50	65 – 70

Рисунок 1 – Яйцо D. renale.

При микроскопии мочи были обнаружены яйца гельминтов, по морфологическим признакам соответствующие *D. renale* (таблица 3, рис. 1).

В качестве антигельминтных препаратов пациенту были назначены фенбендазол (45 мг/кг перорально, 1 раз в сутки, в течение 5-ти дней) и однократная инъекция ивермектина (0,02 мг/кг подкожно).

При проведении ультразвукового исследования, которое было назначено для оценки состояния мочевыделительной системы, выявлено значительное увеличение правой почки. Максимальный диаметр правой почки достигал 7,3 см при истонченном корковом слое. В правой почечной лоханке обнаружено наличие половозрелых паразитов *D.renale*. Таким образом, по результатам клинического обследования, лабораторных анализов крови и мочи, а также ультразвукового исследования диагноз был поставлен – диоктофимоз.

Спустя неделю, были проведены повторные исследования мочи, клинический и биохимический анализы крови, а также ультразвуковое исследование органов брюшной полости. Данные УЗИ, которые подтвердили наличие половозрелых особей гельминта *D.renale* в правой почке, послужили основанием для проведения односторонней нефрэктомии в качестве стандартной тактики лечения.

В ходе лапаротомии были выявлены выраженные деструктивные изменения почечной паренхимы, которая была практически полностью замещена фиброзной тканью с сохранением лишь тонкого коркового слоя. Почка визуализировалась в виде истонченной капсулы, заполненной гельминтами и геморрагическим экссудатом, с незначительными спаечными процессами в области прилегающей брюшины. После стандартной перевязки почечных сосудов пораженный орган был удален (рис. 2), после чего выполнено послойное ушивание операционного доступа.

Послеоперационная терапия включала: антибактериальный инъекционный препарат энрофлоксацин в дозе 5 мг/кг внутримышечно каждые 12 часов; трамадол перорально в дозе 2 мг/кг три раза в сутки.

Таблица 3 – Показатели мочи собаки

Показатели	Показатели пациента	Референсные значения
Удельный вес	1,020	1,015 – 1,045
pH	6,5	6,0 – 7,5
Гемоглобин	+	Отсутствует
Лейкоциты	11 – 12	3,0 – 5,0
Яйца гельминта (*D. renale*)	12 – 14	Отсутствует

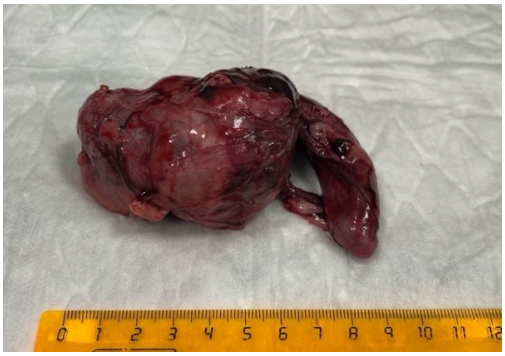
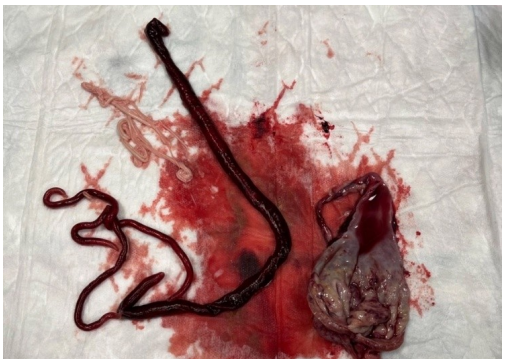


Рисунок 2 – Удаленная почка собаки.



Рисинок 3 – Гельминты D. renale, извлеченные из почечной лоханки.

В результате лапаротомии из правой почки собаки были извлечены два половозрелых гельминта *D. renale*, которые затем подверглись консервации в жидкости Барбагало (3 % раствор формалина в физиологическом растворе поваренной соли) и дальнейшей транспортировке в лабораторию. В лаборатории провели видовую идентификацию образцов (рис. 3).

Исследование выявило, что особи относятся к виду *D. renale* и представляют разнополую пару: самец длиной 30 см при максимальной ширине 3,8 мм и самка длиной 60 см с максимальной шириной 5 мм.

Состояние прооперированного пациента удовлетворительное, прогноз после операции благоприятный.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Представленный в данной статье клинический случай заражения диоктофимозом собаки является завозными. Однако, он актуализирует важность организации регулярного паразитологического мониторинга домашних животных, особенно в регионах с развитой речной системой. Климатические условия Казахстана отличаются выраженным сухим климатом и дефицитом атмосферных осадков, что создает ограничения для развития популяций промежуточных звеньев паразитарной системы *D. renale* (олигохет, ихтиофауны). В южных областях сочетание повышенной влажности с температурными показателями формируют благоприятные условия для длительного существования инвазионных личинок в водной экоксистеме и почвенных субстратах.

A CLINICAL CASE OF DIAGNOSIS AND TREATMENT OF A DOG WITH DIOCTOPHIMOSIS

Kuznetsov Yu.E. * – Dr. of Veterinary Science, Assoc. Professor, Head of the Department of of Parasitology named after V. L. Yakimov (ORCID 0000-0001-9095-7049); **Kuznetsova N.V.** – PhD in Veterinary Science, Assoc. Professor of the Department of Pharmacology and Toxicology (ORCID 0000-0002-3149-1557)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*fish2017@yandex.ru

ABSTRACT

Cases of *D. renale* infection have been reported in Russia, but they are relatively rare. The species *D. renale* reaches a length of up to 1 meter in females and affects, as a rule, the right kidney of carnivorous, wild and domestic mammals. The disease is characterized by damage to the kidneys, renal pelvis and general intoxication of the body. This article describes a clinical case of diagnosis of dioctophimosis and treatment of a 3-year-old dog brought from the Republic of Kazakhstan to Moscow. The dog was admitted to a veterinary clinic in December 2024 with signs of urinary retention and the presence of blood in it. To clarify the diagnosis,

laboratory tests were performed, which included a general urinalysis, general and biochemical blood tests, as well as an ultrasound examination of the kidneys. The results of the blood test showed impaired kidney function. Urine analysis revealed hematuria, as well as eggs of *D. renale* helminths. An ultrasound examination of the kidneys was performed, which confirmed the presence of helminths in the renal pelvis. The diagnosis of dioctophimosis is confirmed by the results of a lifetime laboratory diagnosis – photographs of characteristic eggs of the parasite. The patient was prescribed fenbendazole and ivermectin as anthelmintic drugs. The only treatment for dogs with dioctophimosis is surgery and removal of the dioctophyma from the affected organ (kidney). The ultrasound data, which confirmed the presence of sexually mature *D. renale* worms in the right kidney, served as the basis for unilateral nephrectomy. The operated patient's condition is satisfactory, and the prognosis after surgery is favorable.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Андреянов, О.Н. Систематический анализ гельминтофауны хищных млекопитающих Центрального региона России / О.Н. Андреянов // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные. – 2013. – № 3. – С. 20 – 21.
2. Андреянов О.Н., Сафиуллин Р.Т., Горохов В.В. Зараженность хищников семейства псовых в различных эколого-географических зонах Центрального Нечерноземья России / О.Н. Андреянов, Р.Т. Сафиуллин,
В.В. Горохов [и др.] // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. – 2009. – №10. – С. 17 – 20.
3. Глистные инвазии хищных млекопитающих Приморья и Приамурья / В.Г. Юдин // В сборнике: Современные проблемы природопользования, охотоведения и звероводства. Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию ВНИИОЗ им. проф. Б.М. Житкова. г. Киров. – 2012. – С. 609 – 610.
4. Ермоленко А.В. Возбудители гельминтозов людей в приморском крае / А.В. Ермоленко, Попов А.Ф., Загней Е.В. [и др.]// Вестник ДВО РАН. – 2020. – №1 (209). С. 97 – 114.
5. Кузнецов, Ю. Е. Паразитозы пушных зверей в хозяйствах Северо-Западного региона Российской Федерации (меры борьбы и профилактика): специальность 03.02.11 "Паразитология»: диссертация на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук / Кузнецов Юрий Евгеньевич. – Санкт-Петербург, 2020. – 496 с.
6. Нематодозы и акантоцефалезы животных: Учебное пособие для текущего и промежуточного контроля знаний / Л. М. Белова, Н. А. Гаврилова, А. В. Забровская [и др.]. – Санкт-Петербург: СПбГУВМ 2022. – 115 с. – EDN KJSVRZ.
7. Панова О.А., Хрусталев А.В., Андреянов О.Н. Случай гнатостомоза у лисы из Рязанской области / О.А. Панова, А.В. Хрусталев, О.Н. Андреянов // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. – 2022. – №23. – С. 355 – 360.
8. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2023623730 Российская Федерация. Информационная база данных для мониторинга токсокароза: № 2023623442 : заявл. 19.10.2023: опубл. 02.11.2023 / М. В. Храмченкова, Ю. Е. Кузнецов, Л. М. Белова; заявитель ФГБОУ ВО СПбГУВМ. – EDN MLTVRS.
9. An evaluation of techniques to diagnose Dioctophyme renale in dogs / G. De. A. Capella, J. C. Da. S. Rappeti, N. B. Pinheiro [et al.] // Revista Brasileira de Medicina Veterinaria. – 2024. – Vol. 46. – P. e006423.
10. Shabdarbaeva G., Balgimbayeva A., Zhanteliyeva L., Ibazhanova A., Uğur USLU, Khussainov D. Diagnostics and treatment of dioctophymosis in dogs / G. Shabdarbaeva, A. Balgimbayeva, L. Zhanteliyeva [et al.] // «Вестник НАН РК». – 2020. – № 1. – P. 64 – 71.
11. Sivkova T.N., Kosintsev P.A., Krapivina V.V. Detection of Dioctophyme renale (Goeze, 1782) eggs in archaeological materialsin Mangazeya (Yamalo-Nenets Autonomous Okrug) / T.N. Sivkova, P.A. Kosintsev,

V.V. Krapivina // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. – 2024. – №. 25. – P. 368 – 372.
12. Russo Z.H., Callirgos J.C., García-Ayachi A., Wetzel E.J. Review of dioctophyme renale: etiology, morphology, biology, ecoepidemiology, pathogenesis, symptomatology, diagnosis, treatment, and prevention / Z.H. Russo, J.C. Callirgos, A. García-Ayachi, E.J. Wetzel // J Parasitol. – 2022. – № 1; 108(2). – P. 180 – 191.

REFERENCES

1. Andreyanov, O.N. Systematic analysis of the helminthofauna of predatory mammals of the Central region of Russia / O.N. Andreyanov // Russian Veterinary Journal. Small domestic and wild animals. – 2013. – No. 3. – pp. 20 – 21.
2. Andreyanov O.N., Safiullin R.T., Gorokhov V.V. Infection of canid predators in various ecological and geographical zones of the Central Non-Chernozem region of Russia / O.N. Andreyanov, R.T. Safiullin, V.V. Gorokhov [et al.] // Theory and the practice of combating parasitic diseases. – 2009. – No. 10. – pp. 17 – 20.
3. Helminthic invasions predatory mammals of Primorye and Amur region / V.G. Yudin // In the collection: Modern problems of nature management, hunting and animal husbandry. Materials of the International Scientific and Practical Conference dedicated to the 90th anniversary of the VNIIOZ named after Professor B.M. Zhitkov. Kirov city. – 2012. – pp. 609 – 610.
4. Ermolenko A.V. Pathogens of human helminthiasis in Primorsky Krai / A.V. Ermolenko, Popov A.F., Zagney E.V. [et al.]// Bulletin of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences. – 2020. – №1 (209). – pp. 97 – 114.
5. Kuznetsov, Yu. E. Parasitosis of fur-bearing animals in farms of the North-Western region of the Russian Federation (control measures and prevention) : specialty 02/03/11 "Parasitology" : dissertation for the degree of Doctor of Veterinary Sciences / Kuznetsov Yuri Evgenievich. – St. Petersburg, 2020. – 496 p. – EDN XRPLKS.
6. Nematodes and acanthocephalosis of animals: A textbook for current and intermediate knowledge control / L. M. Belova, N. A. Gavrilova, A.V. Zabrovskaya [et al.]. – St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2022. – 115 p.
7. Panova O.A., Khrustalev A.V., Andreyanov O.N. A case of gnathostomosis in a fox from the Ryazan region / O.A. Panova, A.V. Khrustalev, O.N. Andreyanov // Theory and practice of combating parasitic diseases. – 2022. – No. 23. – pp. 355 – 360.
8. Certificate of State registration of the database No. 2023623730 Russian Federation. Information database for monitoring toxocariasis: No. 2023623442 : application 19.10.2023: published 02.11.2023 / M. V. Khramchenkova, Yu. E. Kuznetsov, L. M. Belova; applicant Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine". – EDN MLTVRS.
13. An evaluation of techniques to diagnose Dioctophyme renale in dogs / G. De. A. Capella, J. C. Da. S. Rappeti, N. B. Pinheiro [et al.] // Revista Brasileira de Medicina Veterinaria. – 2024. – Vol. 46. – P. e006423.
14. Shabdarbaeva G., Balgimbayeva A., Zhanteliyeva L., Ibazhanova A., Uğur USLU, Khussainov D. Diagnostics and treatment of dioctophymosis in dogs / G. Shabdarbaeva, A. Balgimbayeva, L. Zhanteliyeva [et al.] // «Вестник НАН РК». – 2020. – № 1. – pp. 64 – 71.
15. Sivkova T.N., Kosintsev P.A., Krapivina V.V. Detection of Dioctophyme renale (Goeze, 1782) eggs in archaeological materialsin Mangazeya (Yamalo-Nenets Autonomous Okrug) / T.N. Sivkova, P.A. Kosintsev,
V.V. Krapivina // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. – 2024. – №. 25. – P. 368 – 372.
16. Russo Z.H., Callirgos J.C., García-Ayachi A., Wetzel E.J. Review of dioctophyme renale: etiology, morphology, biology, ecoepidemiology, pathogenesis, symptomatology, diagnosis, treatment, and prevention /
Z.H. Russo, J.C. Callirgos, A. García-Ayachi, E.J. Wetzel // J Parasitol. – 2022. – № 1; 108(2). – pp. 180 – 191.

УДК: 619:616.995.1.636.7
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.139

ТРОФИКО-ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ СВЯЗИ ПАРАЗИТОВ ХИЩНЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ УЗБЕКИСТАНА

Сафаров А.А.[1*] – д-р биол. наук (ORCID 0000-0002-7073-9367);
Акрамова Ф.Д.[2] – д-р биол. наук, проф., (ORCID 0000-0002-7662-3605);
Мухитдинова Н.Ф.[3] – базовый докторант (ORCID 0009-0002-9534-4027);
Абдухоликов Х.Х.[4] – исследователь (ORCID 0009-0005-5372-316X);
Абдиева Т.Ж.[5] – базовый докторант (ORCID 0009-0004-8321-7463);
Каримова Н.Б.[4] – исследователь (ORCID 0009-0004-8796-0211);
Азимов Д.А.[2] – академик АН РУз, гл. науч. сотр. (ORCID 0009-0008-8161-0084)

[1] Комитет ветеринарии и развития животноводства Республики Узбекистан
[2] Институт зоологии АН РУз
[3] Ташкентский филиал Самаркандского государственного университета ветеринарной медицины, животноводства и биотехнологии
[4] Самаркандский государственный университет ветеринарной медицины, животноводства и биотехнологии
[5] Нукусский филиал Самаркандского государственного университета ветеринарной медицины, животноводства и биотехнологии

[*] safarov-alisher@mail.ru

Ключевые слова: *Хищные, гельминты, экология, Узбекистан.*
Key words: *Carnivorous, helminths, ecology, Uzbekistan.*
Финансирование: *Данная научно-исследовательская работа выполнена в рамках фундаментального проекта Института зоологии АН РУз «Популяционная экология возбудителей и переносчиков зоонозных заболеваний на территории Центрального Узбекистана» под номером FL-8323102078.*

Поступила: 25.04.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Цель исследований является выявление современного видового состава гельминтов хищных млекопитающих Узбекистана и путей формирования сообщества паразитов и особенностей экологии эпизоотологически значимых видов, а также обоснования эколого-эпизоотологических основ профилактики паразитарных болезней животных. Материалом для настоящей работы послужили проведенные нами паразитофаунистические сборы от домашних и диких хищных млекопитающих Carnivora из различных районов Узбекистана. Изучены трофико-экологические связи гельминтов и их хозяев-хищных млекопитающих - Canidae, Mustelidae и Felidae Узбекистана. Установлено видовое разнообразие гельминтов домашних и диких плотоядных. Фаунистический состав гельминтов изученных хищных млекопитающих представлен четырьмя основными таксономическими группами: Cestoda, Trematoda, Acanthocephala и Nematoda, совокупно насчитывающими 70 видов. Таксономический анализ выявил четкую градацию по степени инвазированности хозяев:

наибольшее видовое богатство гельминтов характерно для семейства Псовые (Canidae) – 51 вид, следом располагаются Кошачьи (Felidae) с 40 видами, тогда как семейство Куньи (Mustelidae) демонстрирует наименьшее разнообразие – 35 видов. Внутри семейств максимальное видовое разнообразие паразитов зарегистрировано у лисицы (*Vulpes vulpes*) – 42 вида, и домашней собаки (*Canis lupus familiaris*) – 32 вида. Напротив, минимальные значения показателей отмечены у ласки (*Mustela nivalis*) и выдры (*Lutra lutra*). По характеру биологического цикла регистрируемы нами гельминты относятся к гомоксенным (10 видов) и гетероксенным (60 видов) формам. В качестве промежуточных хозяев гельминтов плотоядных устоновлены виды олигохет, моллюски, ракообразные и насекомые. Отмечены виды гельминтов, имеющие эпизоотологические и эпидемиологические значения.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Представители отряда Хищные (Carnivora), в частности семейства Canidae, Mustelidae и Felidae, обладают значительной ресурсной ценностью, выступая объектами пушного промысла и трофейной охоты. Однако их популяционная динамика и продуктивные показатели в существенной степени детерминированы паразитарными нагрузками, поскольку эндо- и эктопаразиты выступают облигатными компонентами природных биоценозов. Исследование паразитофауны плотоядных, как домашних, так и диких, представляет собой междисциплинарную научную проблему, имеющую фундаментальное и прикладное измерение. С одной стороны, комплексный анализ качественного и количественного состава их паразитов вносит вклад в общезоологические знания, раскрывая экологические и биоценотические связи. С другой стороны, прикладной интерес к данной группе хозяев обусловлен их ключевой ролью в поддержании природных очагов паразитозов, что определяет их эпизоотологическое и эпидемиологическое значение как резервуаров возбудителей заболеваний, представляющих угрозу для человека и животных агроценозов.

Все это предполагает исследование сообществ паразитов хищных плотоядных в естественных и трансформированных территориях Узбекистана и совершенствование методов контроля паразитарных болезней животных и обеспечение экологической безопасности продуктов животноводства.

В результате проведенных в мире исследований гельминтов хищных млекопитающих выяснены видовой состав фауны паразитов, распространении, морфолого-биологические и экологические особенности ряда видов и групп гельминтов, разработаны методы диагностики и контроля основных болезней паразитарной этиологии-зоонозов и антропозоонозов во многих странах Европы, Азии и Америки. Эти и другие достижения паразитологов мира опубликованы в многочисленных научных статьях, и они обобщены в специальных монографиях, определителях и руководствах [13, 12, 29, 5]. Сведения о фауне, распространении и экологии гельминтов хищных млекопитающих в Узбекистане отражены в работах [18, 7, 9, 17, 14, 33, 34, 35]. В работах авторов представлены региональные особенности паразитофауны отдельных видов плотоядных. Однако, большинство данные этих исследований заметно устарели, и не отражают современную ситуацию фауны гельминтов хищных млекопитающих в биогеоценозах Узбекистана. Поэтому, выяснение современного состояния видового состава паразитов плотоядных на всей территории Узбекистана, определение биологических особенностей эпизоотологически (эпидемиологически) значимых видов и групп паразитов, совершенствование методов и средств профилактики зоонозов представляет актуальным и востребованным.

Целью исследования является выявление современного видового состава гельминтов хищных млекопитающих Узбекистана и путей формирования сообщества паразитов и особенностей экологии эпи-

зоотологически значимых видов, а также обоснования эколого-эпизоотологических основ профилактики паразитарных болезней животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Эмпирическую основу настоящего исследования составили оригинальные паразитофаунистические сборы, полученные от домашних и диких представителей отряда Carnivora в различных биогеографических регионах Узбекистана. Исследованием был охвачен Северо-восток (Ташкентская, Сырдарьинская, Джизакская области), Восток (Ферганская, Андижанская, Наманганская области), Центр (Самаркандская, Бухарская, Навоийская области), Юг (Сурхандарьинская, Кашкадарьинская области) и Северо-запад (Хорезмская область и Республика Каракалпакстан). Схематическое расположение точек сбора представлено на рисунке 1.

Гельминтологические сборы проводились в охотничьи сезоны методом полных гельминтологических вскрытий трупов и их отдельных органов по общеизвестному методу (Скрябин, 1928) с последующей камеральной обработкой. Исследованию было подвергнуто 1002 тушек животных (табл. 1).

Также проводились сбор и исследование олигохет, моллюсков, ракообразных и насекомых с целью выявления зараженности их личиночными стадиями гельминтов из тех территорий, где были добыты хищные млекопитающие. Сбор беспозвоночных проводилось весной, летом и осенью 2020-2023 гг. При этом нами использованы известные методические подходы [2, 6, 10, 21, 22].

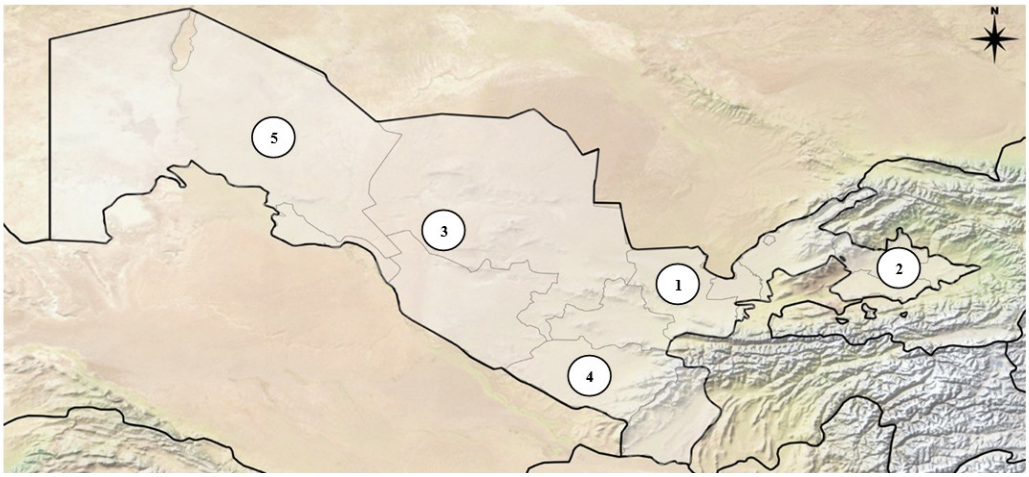


Рисунок 1 – Карта Узбекистана с регионами:
1- Северо-Восточный, 2- Восточный, 3- Центральный, Южный,
5- Северо-Западный.

Также проводились сбор и исследование олигохет, моллюсков, ракообразных и насекомых с целью выявления зараженности их личиночными стадиями гельминтов из тех территорий, где были добыты хищные млекопитающие. Сбор беспозвоночных проводилось весной, летом и осенью 2020-2024 гг. При этом нами использованы известные методические подходы [2, 6, 10, 21, 22].

Обнаруженные личиночные стадии цестод, трематод, акантоцефал фиксировали в 70% этиловом спирте, личинки нематод – в 1.5-2% формалине. Основную часть обнаруженных личинок нематод изучили живыми, предварительно проводили их в неподвижное состояние, с легким подогреванием над спиртовкой [10].

Исследование проводили современными приборами: микроскоп с фазово-контрастным устройством, инвертированной СК2-TR (Olimpus, Japan), исследовательский микроскоп LOMO, охлаждающие центрифуга (Dupont, USA), бинокуляр MI – 2200 (Olimpus, Japan), тринокулярной микроскоп N-300M (Hingo Yongkin Optics).

Таблица 1 – Видовой состав исследованных животных

Вид животных	Исследовано, особей	Заражено, особей
Шакал - *Canis aureus*	120	101
Волк - *Canis lupus*	62	50
Собака - *Canis familiaris*	399	380
Корсак - *Vulpes corsac*	61	49
Лисица - *Vulpes vulpes*	68	63
Каменная куница - *Martes foina*	43	21
Американская норка - *Mustela vison*	26	11
Барсук - *Mustela nivalis*	57	23
Ласка - *Meles meles*	35	16
Речная выдра - *Lutra lutra*	6	4
Камышовый кот - *Felis chaus*	43	31
Степная кошка - *Felis lybica*	11	7
Домашняя кошка - *Felis catus*	66	40
Рысь - *Lynx lynx*	5	4
Всего	**1002**	**800**

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Из 1002 вскрытых животных 800 или 79,8% оказались инвазированными гельминтами. Зараженность животных колебалось в пределах от 40,2 до 95,3%, в зависимости от вида хищников, обитающих в биогеоценозах Узбекистана. Идентифицировано 70 видов гельминтов, принадлежащих к 4 классам – Cestoda, Trematoda, Acanthocephala и Nematoda.

По количеству видов гельминтов, первую позицию занимают представители псовых (Canidae) – 51 вид; немного меньше у кошачьих (Felidae) – 40 видов; последнее место по этому показателю занемают куньи (Mustelidae) – 35 видов.

Таксономическая структура паразитофауны хищных млекопитающих демонстрирует выраженную гетерогенность на уровне семейств, что наглядно иллюстрируют данные рис. 2

Анализ гельминтов псовых (51 вид) выявил следующее соотношение таксономических групп: цестоды составляют 36%, трематоды – 9,8%, скребни (акантоцефалы) – 3,9%, а нематоды – 47%. Схожая таксономическая структура наблюдается и у представителей семейств куньих и кошачьих. Общей закономерностью для всех изученных групп хищников является абсолютное доминирование в фаунистических комплексах двух классов гельминтов: цестод (28,5–37,5%) и нематод (47–81,2%), что формирует основу паразитоценозов хищных млекопитающих Узбекистана (табл. 2).

Как следует из приведенных данных, общая экстенсивность инвазии гельминтами среди хищных млекопитающих достигла 79,8%. Интенсивность инвазии варьировала в широком диапазоне – от единичных особей до нескольких десятков паразитов. При этом преобладают случаи полиинвазии, при которой у одного хозяина регистрировалось от 3 до 9 видов гельминтов одновременно. Можно

предположить, что именно комбинированное патогенное воздействие при столь высокой паразитарной нагрузке является критическим фактором, приводящим к летальному исходу у интенсивно инвазированных животных.

Ниже представлены результаты фаунистического анализа гельминтов исследованных групп хищных млекопитающих.

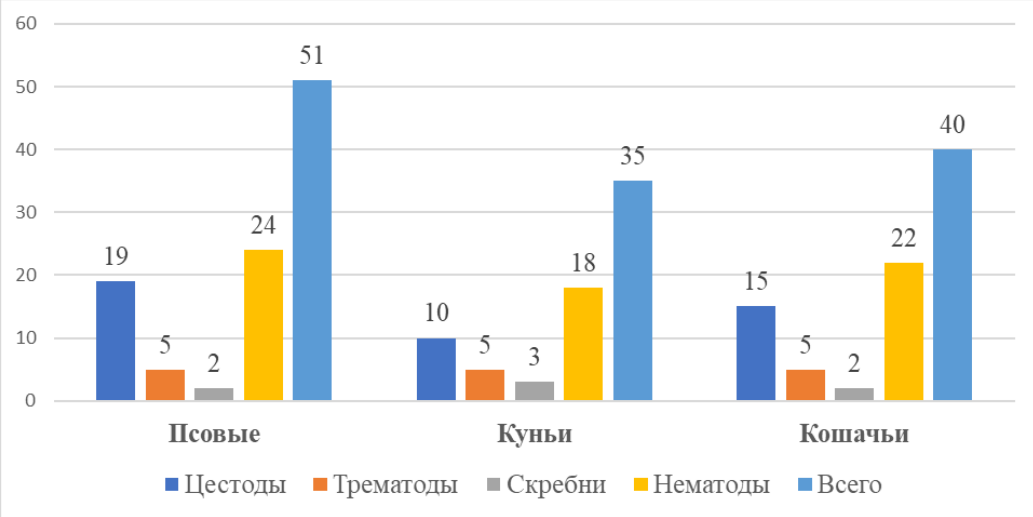


Рисунок 2 – Число видов гельминтов отдельных классов у хищных млекопитающих различных семейств.

Таблица 2 – Число видов гельминтов отдельных классов у хищных млекопитающих различных семейств

Семейство	Всего	Паразиты хищных млекопитающих							
		Цестоды		Трематоды		Скребни		Нематоды	
		Число видов	%	Число видов	%	Число видов	%	Число видов	%
Canidae	51	19	36,0	5	9,8	2	3,9	24	47,0
Mustelidae	35	10	28,5	5	14,2	3	8,5	18	51,2
Felidae	40	15	37,5	5	15,5	2	5,0	22	50,5

Гельминтофауна псовых – *Canidae* Gray, 1821

В рамках настоящего исследования были изучены 5 из них: шакал (*Canis aureus*), волк (*Canis lupus*), домашняя собака (*Canis lupus familiaris*), корсак (*Vulpes corsac*) и лисица обыкновенная (*Vulpes vulpes*). Как было установлено ранее, у обследованных представителей псовых зарегистрирован 51 вид паразитических гельминтов, демонстрирующий выраженную специфичность распределения по разным видам-хозяевам.

Отдельное внимание уделено гельминтофауне домашней собаки (*Canis lupus familiaris*). Результаты исследований свидетельствуют о высокой степени гельминтной инвазии как у сельских, так и у городских популяций на территории Узбекистана. Из 399 обследованных особей

гельминты были детектированы у 378, что соответствует экстенсивности инвазии в 94,9%. Идентификация собранного материала позволила верифицировать 32 вида паразитов, относящихся к четырем классам: Cestoda, Trematoda, Acanthocephala и Nematoda: *Diphyllobothrium latum, Dipylidium caninum, Joyeuxiella rossicum, Mesocestoides lineatus, Taenia hydatigena, Taenia pisiformis, Taenia multiceps, Taenia skrjabini, Hydatigera taeniaeformis, Echinococcus granulosus, Dicrocoelium dendriticum, Plagiorchis elegans, Alaria alata, Macrocanthorynchus catulinus, Capillaria plica, Trichocephalus vulpis, Dioctophyma renale, Strongyloides stercoralis, Ancylostoma caninum, Uncinaria stenocephala, Crenosoma vulpis, Toxascaris leonine, Toxocara canis, Spirocerca lupi, Spirocerca arctica, Physoloptera preputialis, Physoloptera sibirica, Gongylonema pulchrum, Rictullaria affinus, Rictullaria cahirensis, Dirofilaria immitis* и *Dirofilaria repens*.

В таксономической структуре гельминтофауны собак Узбекистана количественное доминирование принадлежит нематодам, которые представлены 18 видами. Данные виды распределяются по семи отрядам: Trichocephalida, Ascaridida, Spirurida, Dioctophymida, Rhabditida, Strongylida и Pseudaliida. Для всех зарегистрированных нематод собаки выступают облигатными дефинитивными хозяевами. Наибольшим видовым богатством в рамках класса характеризуется отряд Spirurida, объединяющий 8 видов.

Класс скребней (Acanthocephala) в паразитоценозах собак республики крайне обеднен и представлен единственным видом — *Macrocanthorynchus catulinus* Kostylew, 1927. Фауна цестод, насчитывающая 10 видов, демонстрирует бóльшее таксономическое разнообразие, включая 2 отряда, 4 семейства и 7 родов. Наибольший вклад в это разнообразие вносит отряд Cyclophyllida, который охватывает 3 семейства, 7 родов и все 10 видов. При этом семейство Taeniidae доминирует по числу таксонов, объединяя 7 родов и 9 видов. Все указанные виды цестод в имагинальной стадии являются кишечными паразитами. Трематодофауна собак, напротив, отличается бедностью видового состава и представлена тремя видами из двух отрядов (Plagiorchida и Strigeida): *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819), *Plagiorchis elegans* (Rudolphi, 1802) и *Alaria alata* (Goeze, 1792). Первый вид, *D. dendriticum*, имеет широкий круг хозяев, включая млекопитающих различных отрядов и человека [3]. Второй, *P. elegans*, является поликсенным паразитом, поражающим птиц, хищных млекопитающих и рептилий. Третий вид, *A. alata*, — половозрелый паразит хищных млекопитающих, в том числе собак, с обширным географическим ареалом, что подтверждается данными из многих стран [26].

Полученные нами результаты по фауне гельминтов собак сельских популяций частично подтверждают данные ранее проведенных исследований, которые были обобщены Султановым и др. (1975) в монографии «Гельминты домашних млекопитающих Узбекистана», где отмечены 32 вида паразитических червей.

Таким образом, синтез литературных данных и результатов настоящего исследования позволяет верифицировать состав гельминтофауны собак Узбекистана, насчитывающий 41 вид. Таксономический профиль представлен 20 видами нематод, 15 – цестод, 5 – трематод и 1 видом акантоцефал.

Все выявленные гельминты являются типичными паразитами хищных млекопитающих, однако их фауна демонстрирует выраженную пространственную гетерогенность. В популяциях сельских собак зарегистрирован полный видовой спектр (41 вид), тогда как в урбанизированных биоценозах он существенно редуцирован (21 вид), что детерминировано спецификой городской среды. Структура паразитоценозов сельских популяций также варьирует в зависимости от региона: максимальное альфа-разнообразие характерно для Северо-восточного (33 вида) и Северо -западного (32 вида) регионов, тогда как в Восточном регионе фауна наиболее обеднена (18 видов).

С эпидемиологической и эпизоотологической точек зрения, гельминты собак подразделяются на две значимые группы:

Медико-санитарные зоонозы - *Diphyllobothrium latum, Dipylidium caninum, Taenia hydatigena, T. multiceps, Echinococcus granulosus, Alveococcus multilocularis, Dioctophyma renale, Toxocara canis, Gongylonema pulchrum, Dirofilaria repens, Dracunculus medinensis*.

Патогены ветеринарного значения - представители семейств Taeniidae, Dicrocoeliidae, Anisakidae, Ascarididae, Trichocephalidae.

Роль собаки как резервуара зоонозных инвазий продолжает оставаться предметом пристального внимания. Популяции собак, будучи интегральным компонентом антропогенных экосистем, инвазированы высокопатогенными гельминтами, многие из которых в личиночной или имагинальной стадии способны паразитировать у человека и продуктивных животных. Наиболее эпидемиологически значимыми являются эхинококкоз, альвеококкоз, дирофиляриоз, токсокароз и дифиллоботриоз. Социально-экономические кризисы неизбежно сопровождаются всплесками данных гельминтозов, нанося значительный экономический ущерб, что подтверждает актуальность задач по оздоровлению популяций собак.

Все элементы паразитарных систем тесно связаны с физико-географическими и биологическими параметрами конкретных биогеоценозов. Комплексное влияние этих факторов модулирует качественные и количественные показатели паразитофауны, определяя особенности эпизоотологических и эпидемиологических процессов на эндемичных территориях. В этом контексте особую релевантность приобретает анализ связей в системе «гельминты домашней собаки – другие позвоночные – человек» (табл. 3). Наибольшее число общих с собаками паразитов отмечено у млекопитающих других отрядов.

Важно подчеркнуть, что регистрация паразитов собак у других позвоночных соответствует разным фазам их жизненного цикла. Рыбы, амфибии, рептилии, птицы и некоторые млекопитающие в условиях как природных, так и урбанизированных ландшафтов выполняют функции промежуточных или резервуарных хозяев для соответствующих видов гельминтов.

Таблица 3 – Связь гельминтофауны собак и других позвоночных

Классы гельминтов	Число видов	Хозяева				
		Рыбы	Амфибии	Рептилии	Птицы	Млекопитающие других отрядов
Cestoda	15	2	1	2	1	5
Trematoda	5	1	4	3	4	2
Acanthocephala	1	-	-	-	-	1
Nematoda	20	2	1	1	1	3
Всего	**41**	**5**	**6**	**6**	**6**	**11**

Как показывают данные таблицы 5, из числа видов представленных в гельминтофауне собак, у других отрядов млекопитающих Узбекистана отмечено 13 видов следующих родов – *Spirometra* Mueller, 1937 (1 вид), *Taenia* Linnaeus, 1758 (5 видов), *Echinococcus* Rudolphi, 1801 (1 вид), *Alveococcus* Abuladse, 1960 (1 вид), *Mesocestoides* Vaillant, 1863 (1 вид), *Plagiorchis* Lühe, 1899 (1 вид), *Macracanthorhynchus* Travassos, 1917 (1 вид), *Filaroides* Beneden, 1858 (1 вид), *Toxocara* Stiles, 1905 (1 вид). По этому показателю, первые позиции занимают отряды грызунов и парнокопытных, у которых выявлено по 8 видов гельминтов

общих для собак и отмеченных отрядов млекопитающих.

Резюмируя изложенные материалы о связи гельминтофауны собак с другими отрядами млекопитающих, можно отметить, что они являются довольно тесной с двумя отрядами парно – и непарнокопытными, которые выполнают роль промежуточных хозяев для 7 видов цестод. Эти группы животных и собаки выполняют роль окончательного хозяина для одного вида трематод – *D. dentriticum.*

Гельминтофауну других классов позвоночных животных и собак связывает либо паразитирование гельминтов, принадлежащих к широко специфичным видам, как *Dicrocoelium dentriticum, Plagiorchis elegans, Gongylonema pulchrum, Toxocara canis, Spirocerca lupi, Mesocestoides lineatus,* хозяевами которых являются большинство классов позвоночных, либо паразитов, заражение которыми происходит в одной из фаз развития.

В данном случи рыбы, амфибии, рептилии и птицы выполняют роль резервуарных хозяев гельминтов собак.

В нашем материале рыбы участвуют в качестве дополнительных или резервуарных хозяев следующих родов – *Diphyllobothrium* Cobbold, 1858, *Echinochasmus* Dietz, 1909, *Dioctophyma* Collet-Meygret, 1802, *Spirocerca* Railliet et Henry, 1911. Эти категории хозяев характерны и для амфибий и рептилий, у которых отмечено паразитирование личиночных стадий гельминтов 6 видов. Птицы, как дополнительные или резервуарные хозяева отмечены для 6 видов гельминтов собак Узбекистана.

Отмеченные связи гельминтов собак с другими группами холоднокровных и теплокровных позвоночных, вероятно, способствовали формированию фаунистических комплексов гельминтов широкому расселению инвазий в биогеоценозах.

Гельминты шакала (*Canis aureus* L., 1758).

При исследовании 120 особей шакала у 101 обнаружены гельминты. Экстенсивность заражения составила 84,1%. Интенсивность инвазии колеблется от единицы до десятков экз. Обнаруженные нами гельминты оказались представителями 26 видов: *Diphyllobothrium latum*, *Dipylidium caninum*, *Taenia hydatigena*, *Taenia ovis*, *Taenia multiceps*, *Hydatigera taeniaeformis*, *Echinococcus granulosus*, *Mesocestoides lineatus*, *Plagiorchis elegans*, *Alaria alata*, *Macrocanthorynchus catulinus*, *Capillaria plica*, *Capillaria putorii*, *Trichocephalus vulpis*, *Dioctophyma renale*, *Strongyloides vulpis*, *Ancylostoma caninum*, *Uncinaria stenocephala*, *Toxascaris leonina*, *Toxocara canis*, *Spirocerca lupi*, *Physoloptera praeputialis*, *Physoloptera sibirica*, *Gongylonema pulchrum*, *Dirofilaria immits* и *Dirofilaria repens*.

Наиболее широко представлены нематоды (15 видов) и цестоды (8 видов). Из общего числа видов (26), все цестоды (8 видов), трематоды (2 вида) и скребни (1 вид) развиваются с участием промежуточных хозяев, относятся к гетероксенным формам гельминтов. Нематоды представлены как гетероксенными, так и моноксенными формами.

Гельминты волка (*Canis lupus* L., 1758).

Из исследованных 62 особей волков, 50 (80,6%) оказались инвазированными паразитическими червями. Идентифицировано 26 видов гельминтов, принадлежащих к цестодам (11 видов), трематодам (2 вида), скребням (2 вида) и нематодам (11 видов): *Diphyllobothrium latum*, *Dipylidium caninum*, *Diplopylidium nőlleri*, *Taenia hydatigena*, *Taenia ovis*, *Taenia multiceps*, *Taenia skrjabini*, *Tetratirotaenia polyacantha*, *Alveococcus multilocularis*, *Echinococcus granulosus*, *Mesocestoides lineatus*, *Plagiorchis elegans*, *Alaria alata*, *Macrocanthorynchus catulinus*, *Moniliformis moniliformis*, *Capillaria plica*, *Capillaria putorii*, *Trichocephalus vulpis*, *Dioctophyma renale*, *Ancylostoma caninum*, *Toxascaris leonina*, *Toxocara canis*, *Spirocerca lupi*, *Physoloptera sibirica*, *Dirofilaria immits* и *Dirofilaria repens*.

Основу фауны гельминтов волка составляют цестоды и нематоды, большинство видов которых являются паразитами

сельскохозяйственных, охотничьих животных и человека.

Гельминты корсака (*Vulpes corsac* (L., 1768).

Общая зараженность корсака гельминтами составила 80,3%. У 49 особей из 61 исследованных были отмечены гельминты. Фауна гельминтов слагается из 23 видов: *Dipylidium caninum*, *Diplopylidium nőlleri*, *Taenia crassiceps*, *Hydatigera taeniaeformis*, *Tetratirotaenia polyacantha*, *Alveococcus multilocularis*, *Echinococcus granulosus*, *Plagiorchis elegans*, *Alaria alata*, *Macrocanthorynchus catulinus*, *Moniliformis moniliformis*, *Thominx aerophilus*, *Ancylostoma caninum*, *Uncinaria stenocephala*, *Toxascaris leonina*, *Toxocara canis*, *Toxocara mystax*, *Oxynema numidica*, *Spirocerca arctica*, *Spirocerca lupi*, *Physoloptera praeputialis*, *Physoloptera sibirica* и *Rictullaria affinus*.

Сообщества гельминтов, состоящие из цестод (7 видов), трематод (2 вида), акантоцефал (2 вида) и нематод (12 видов), оказались банальными видами, характерными для плотоядных. По характеру жизненного цикла, отмеченные виды гельминтов являются представителями гетероксенных и моноксенных форм, в циркуляции которых участвуют популяции корсака в биогеоценозах Узбекистана.

Гельминты лисицы (*Vulpes vulpes* (L., 1768).

При гельминтологическом исследовании 68 особей лисиц у 63 выявлены паразитические черви. Экстенсивность заражения очень высокая 92,6%. Интенсивность инвазии колеблется в широких пределах, от единичных до несколько десятков экземпляров.

Фауна гельминтов лисиц состоит из 42 видов. Класс Cestoda представлен 16 видами, Trematoda – 4 видами и Acanthocephala – 2 видами. Класс Nematoda включает – 20 видов: *Diphyllobothrium latum*, *Spirometra erinacei-europae*, *Dipylidium caninum*, *Diplopylidium nőlleri*, *Joyeuxiella echinorhynchoides*, *Joyeuxiella pasqualei*, *Joyeuxiella rossicum*, *Taenia hydatigena*, *Taenia macrocystis*, *Taenia pisiformis*, *Hydatigera krepkogorski*, *Hydatigera taeniae formis*, *Tetratirotaenia polyacantha*, *Alveococcus multilocularis*, *Echinococcus granulosus*, *Mesocestoides lineatus*, *Dicrocoelium dendriticum*, *Plagiorchis elegans*, *Echinochasmus perfoliatus*, *Alaria alata*, *Macrocanthorynchus catulinus*, *Moniliformis moniliformis*, *Capillaria plica*, *Capillaria putorii*, *Thominx aerophilus*, *Trichocephalus vulpis*, *Dioctophyma renale*, *Strongyloides vulpis*, *Ancylostoma caninum*, *Uncinaria stenocephala*, *Crenosoma vulpis*, *Toxascaris leonina*, *Toxocara canis*, *Toxocara mystax*, *Oxynema numidica*, *Spirura rytipleurites*, *Spirocerca lupi*, *Physoloptera praeputialis*, *Physoloptera sibirica*, *Gongylonema pulchrum*, *Dirofilaria immits* и *Dirofilaria repens*.

Из общего число видов (42) гельминтов лисиц, около 50% могут паразитировать у домашних, промысловых животных и человека, что подчеркивает значение исследуемых плотоядных в распространении возбудителей антропозоонозов в Узбекистане.

ГЕЛЬМИНТОФАУНА КУНЬИХ – *MUSTELIDAE* SWAINSON, 1835

Куньи в Узбекистане представлены 11 видами и подвидами, принадлежащими 6 родам – *Mustela* L., 1785; *Vormela* Blasius, 1844; *Martes* Pinel, 1792; *Mellivora* Storr, 1780; *Meles* Brisson, 1762; *Lutra* Brisson, 1762. Представители этих родов оказались хозяевами гельминтов. Имеются сообщения о зараженности гельминтами некоторых видов куньих (перевязки, каменной куницы, барсука) в Узбекистане [14]. Автором зарегистрировано 5 видов гельминтов (2 вида цестод и 3-нематод)

Нами проводились исследования 5 видов куньих (каменная куница, американская норка, барсук, ласка и речная выдра), которые оказались зараженными паразитическими червями. Особенности фауны гельминтов исследованных видов куньих представлены ниже.

Гельминты каменной куницы (*Martes foina* Erxleben, 1777).

При исследовании 43 особей куницы у 21 выявлены гельминты. Зараженность составила 49,0%. Собранные паразиты оказались представителями 17 видов,

принадлежащих к цестодам (6 видов), трематодам (1 вид) и нематодам (10 видов): *Taenia crassiceps*, *Taenia hydatigena*, *Taenia martis*, *Taenia mustelae*, *Hydatigera taeniaeformis*, *Mesocestoides lineatus*, *Alaria alata*, *Capillaria mucronata*, *Capillaria plica*, *Capillaria putorii*, *Thominx aerophilus*, *Dioctophyma renale*, *Uncinaria stenocephala*, *Crenosoma vulpis*, *Filaroides martis*, *Spirocerca lupi*, *Filaria martis*.

В фауне гельминтов каменной куницы Узбекистана превалируют нематоды (10 видов) и цестоды (6 видов). Примечательно, что, из 17 видов гельминтов, за исключением - *Uncinaria stenocephala,* в развитии участвуют промежуточные и резервуарные хозяева. Куницы заражаются при поедании либо промежуточных, либо резервуарных хозяев.

Гельминты американской норки (*Mustela vison* Schreber, 1777).

Редкий вид с ограниченным распространением, спонтанно интродуцированный вид, успешно расселяющийся по долинам рек Северо-восточного Узбекистана. Распространение вида охватывает речные долины бассейнов рек Чирчика и Ахангарана от равнинной до среднегорной части юга-восточных склонов хребтов Каржантау, Угамского, Пскемского, восточной части Чаткальского хребта. Расселение вида в бассейнах рек Чирчик и Ангрен происходит достаточно интенсивно. Диапазон высотного распространения охватывает от 590 до 2900 м. над у. м.

Гельминтофауна вида в Узбекистане не изучена. У интродуцированной популяции в СНГ обнаружено 17 видов гельминтов [13].

При исследовании 26 особей у 11 (42,3%) обнаружено 18 видов гельминтов: *Diphyllobothrium latum*, *Taenia crassiceps*, *Taenia martis*, *Taenia mustelae*, *Taenia pisiformis*, *Mesocestoides lineatus*, *Plagiorchis elegans*, *Euparyphium melis*, *Alaria alata*, *Corynosoma strumosum*, *Capillaria plica*, *Capillaria putorii*, *Thominx aerophilus*, *Dioctophyma renale*, *Strongyloides martis*, *Uncinaria stenocephala*, *Crenosoma petrowi* и *Filaroides osleri*.

Гельминты норок представлены цестодами (6 видов), трематодами (2 вида), скребнями (1 вид) и нематодами (11 видов). По характеру жизненного цикла, обнаруженные нами гельминты, за исключением, двух видов нематод - *Strongyloides martis* и *Uncinaria stenocephala,* развиваются с участием промежуточных и резервуарных хозяев.

Гельминты барсука (*Meles meles* (L., 1758).

Мы исследовали 57 особей, из которых у 23 (40,3%) находили гельминтов, принадлежащих к 19 видам. Цестоды представлены 5 видами, трематоды – 1 видом, акантоцефалы – 2 видами. Класс нематода состоит из 11 видов. Основу фауны гельминтов барсука в Узбекистане составляют цестоды и нематоды, характерные для хищных млекопитающих: *Spirometra erinacei-europei*, *Dipylidium caninum*, *Taenia crassiceps*, *Taenia martis*, *Mesocestoides lineatus*, *Alaria alata*, *Macrocanthorynchus catulinus*, *Moniliformis moniliformis*, *Capillaria plica*, *Capillaria putorii*, *Thominx aerophilus*, *Ancylostoma caninum*, *Uncinaria stenocephala*, *Crenosoma vulpis*, *Vigisospirura potekhini*, *Physoloptera sibirica*, *Gnathostoma spinigerum*, *Pneumospirura capsulate* и *Filaria martis*.

Отмеченные виды локализуются, главным образом, в органах пищеварительной системы (16 видов), а также респираторной системы (2 вида) и подкожной клетчатке (1 вид).

Гельминты ласки (*Mustela nivalis* (L., 1766).

При исследовании 35 особей ласки пустынных зон Северо-западного (Каракалпакстан, Устюрт, Кызылкум), Восточного и Северо-восточного Узбекистана у 16 особей обнаружены гельминты. Зараженность составила 46,2%. Интенсивность инвазии невысокая. Нами идентифицировано 9 видов паразитов. Из них цестоды – 2 вида, трематоды -2 вида, скребни – 1 вид и нематоды – 4 вида: *Taenia mustelae*, *Mesocestoides lineatus*, *Euparyphium melis*, *Alaria alata*, *Macrocanthorynchus catulinus*, *Capillaria putorii*, *Strongyloides martis*, *Filaria martis* и *Gnathostoma spinigerum*.

Отмеченные виды гельминтов этого зверька, относятся к характерным паразитам куньих и других групп хищных млекопитающих. В гельминтологическом отношении ласки относятся к слабо изученным объектам. Нет каких-либо данных о зараженности гельминтами этого зверька в Узбекистане. Таким образом, гельминтофауна ласки в Узбекистане изучена еще сравнительно слабо.

Гельминты речной выдры (*Lutra lutra* (L., 1758).

Из-за малочисленности выдра занесена в Красную книгу Узбекистана (2019). У речной выдры известно 26 видов гельминтов в странах СНГ [13]. В Узбекистане гельминтофауна выдры не изучена.

При исследовании 6 экземпляров речной выдры из водоемов Гиссарского района Сурхандарьинской области у 4 – найдены гельминты, принадлежащие к цестодам, трематодам и нематодам: *Diphyllobothrium latum, Spirometra erinaceieuropaei, Mesocestoides lineatus, Fasciola hepatica, Alaria alata, Plagiorchis lutrae, Dioctophyma renale, Physoloptera sibirica, Rictullaria affinis, Strongyloides martis.*

Интенсивность инвазии, обнаруженных трематод составила от 2 до 13 экз. Из общего числа видов, *D. latum, M. lineatus, F. hepatica, A. alata* и *D. renale* являются паразитами сельскохозяйственных животных и человека, т.е., они представляют эпизоотологическое и эпидемиологическое значения.

ГЕЛЬМИНТОФАУНА КОШАЧЬИХ – *FELIDAE* GRAY, 1821

Семейство кошачьи в Узбекистане представлено 10 видами, которые обитают в разнотипных биоценозах и являются важными компонентами биоразнообразия. В гельминтологическом отношении кошачьи Узбекистана относятся к слабо изученным объектам. Имеющиеся сведения по фауне гельминтов отдельных видов фрагментарны [17, 12] и довольно устарели.

Нами проведено исследование 4 вида диких и домашних кошачьих Узбекистана. Из общего числа вскрытых – 125 особей, 82-оказались инвазированными паразитами, что составляют – 65.6%.

Гельминты камышового кота (*Felis chaus* Gueld., 1776).

Из 43 исследованных особей камышового кота у 31(74,4%) выявлены гельминты. Идентифицировано 23 вида: *Spirometra erinaceid-europaei*, *Dipylidium caninum*, *Diplopylidium nőlleri*, *Joyeuxiella rossicum*, *Taenia hydatigena*, *Taenia macrocystis*, *Hydatigera krepkogorski*, *Hydatigera taeniaeformis*, *Mesocestoides lineatus*, *Macrocanthorynchus catulinus*, *Moniliformis moniliformis*, *Thominx aerophilus*, *Dioctophyma renale*, *Ancylostoma caninum*, *Troglostrongylus badanini*, *Toxascaris leonina*, *Vigisospirura potekhini*, *Physoloptera sibirica*, *Gnathostoma spinigerum*, *Rictularia cahirensis*, *Dirofilaria immits* и *Dirofilaria repens*.

В наших сборах, цестоды представлены – 9 видами, акантоцефалы – 2 видами и нематоды – 11 видами. Отмеченные виды гельминтов характерны для хищных млекопитающих, за исключением одного вида *Troglostrongylus badanini* Muminov, 1964, который не найден у других видов плотоядных.

Гельминты степной кошки (*Felis lybica* Forster, 1780).

В наших сборах у исследованных 11 особей, гельминты выявлены у 7 (63,6%). Из которых определены 15 видов, принадлежащих к классам Cestoda и Nematoda: *Spirometra erinaceid-europei*, *Dipylidium caninum*, *Diplopylidium nőlleri*, *Joyeuxiella rossicum*, *Taenia macrocystis*, *Taenia pisiformis*, *Alveococcus multilocularis*, *Mesocestoides lineatus*, *Uncinaria stenocephala*, *Toxascaris leonina*, *Toxocara mystax*, *Oxynema numidica*, *Vigisospirura potekhini*, *Physoloptera sibirica* и *Rictullaria affinus*.

Гельминты домашней кошки (*Felis catus* Linnaeus, 1758).

При исследовании 65 особей бездомных кошек у 40 – обнаружены гельминты, принадлежащие к трем классам – Cestoda, Acanthocephala и Nematoda. Общая зараженность составила – 60,5%. Интенсивность инвазии невысокая, от единицы до десятков экземпляров. Гельминтофауна домашней кошки слагается из цестод – 12

видов и нематод 11 видов. Все отмеченные виды, по характеру биологии, оказались гетероксенными формами гельминтов: *Dipylidium caninum*, *Diplopylidium acanthotetra*, *Joyeuxiella pasqualei*, *Joyeuxiella rossicum*, *Taenia hydatigena*, *Taenia crassiceps*, *Taenia laticollis*, *Taenia macrocystis*, *Taenia pisiformis*, *Hydatigera taeniaeformis*, *Echinococcus granulosus*, *Mesocestoides lineatus*, *Capillaria putorii*, *Ancylostoma caninum*, *Uncinaria stenocephala*, *Toxascaris leonina*, *Toxocara canis*, *Spirura rytipleurites*, *Physoloptera praeputialis*, *Physoloptera sibirica*, *Rictullaria affinus*, *Dirofilaria immits* и *Dirofilaria repens*.

Гельминты рыси (*Lynx lynx* (L., 1758).

Уязвимый сокращающийся, мозаично распространенный туркестанский подвид *Lynx lynx* - (Linnaeus, 1758) ssp. *isabellinus* (Blyyh, 1847). Встречается в западном Тянь-шане и Памиро – Алае. Местами обитания являются средний и верхний пояса гор, часто вблизи скально – осыпных участков. Численность стабильная. На Гиссарском хребте обитает около 150 особей, 20-25 - на хребте Кугитанг, около 100 - в Западном Тянь-шане. Охраняется в Гиссарском, Чаткальском, Зааминском и Сурханском заповедниках.

О гельминтофауне рыси имеются очень скудные сведения [27, 14]. Авторы сообщают об обнаружении 2 видов цестод – *Taenia mystax, T. macrocystis.*

Нам удалось исследовать 5 особей, убитых браконьерами на Юге и Северовостоке Узбекистана в 2020-2022 гг. 4 (80,0%) особи оказалось зараженными гельминтами, из которых идентифицировано 16 видов, принадлежаших к классам Cestoda (7 видов) и Nematoda (9 видов): *Spirometra erinacei-europaei*, *Taenia hydatigena*, *Taenia laticollis*, *Taenia pisiformis*, *Hydatigera taeniaeformis*, *Echinococcus granulosus*, *Mesocestoides lineatus*, *Capillaria plica*, *Capillaria putorii*, *Thominx aerophilus*, *Ancylostoma caninum*, *Ancylostoma tubaeforme*, *Uncinaria stenocephala*, *Toxocara canis*, *Toxocara mystax* и *Petrowospirura lynxi*.

Отмеченные виды являются характерными для хищных млекопитающих. Только один вид – *P. lynxi* является специфическим паразитом рыси и манула [12].

Мы рассмотрели видовой состав гельминтов хищных млекопитающих на основе, относительно, большого материала в условиях современного экологического фона Узбекистана.

Наши наблюдения показали, что качественное и количественное распределение гельминтофауны отдельных семейств хищных млекопитающих Узбекистана неодинаково. Удельный вес гельминтов отдельных классов в гельминтофауне различных семейств хищников четко показывает особенности фаунистических комплексов исследуемых животных.

Зарегистрированные у хищных млекопитающих паразиты, за исключением нескольких видов *(Fasciola hepatica, Dirocoelium dendriticum),* относятся к облигатным гельминтам исследуемых животных. Все это дает основание полагать о стабильности “паразито – хозяинных” отношений системы гельминты и хищные млекопитающие. Гельминты, в процессе исторического развития освоили, практически, все органы и системы хищных животных и выработали различные пути выделения яиц или личинок во внешнюю среду. Сложившиеся биоценотические связи обеспечивают контакт инвазионных элементов с потенциальными промежуточными и дополнительными к резервуарным хозяевам гельминтов. Для иллюстрации этого процесса, считаем возможным рассмотреть биоценотические связи хищных млекопитающих (Canidae, Mustelidae, Felidae), определяющих состав их гельминтофауны.

По характеру биологического цикла регистрируемые нами гельминты хищных млекопитающих могут быть разделены на две группы: гомоксенные виды (развитие которых происходит без участия промежуточного хозяина) и гетероксенные виды (развитие - с участием промежуточного хозяина). Гетероксенные формы в нашем материале составляют 60 видов

или 85.9% от общей фауны гельминтов. Сюда относятся все виды цестод – 23, трематод – 8, скребней – 3 и – 26 видов нематод (табл. 4).

Таблица 4 – Участие отдельных групп животных в передаче инвазионных стадий гельминтов хищным млекопитающим Узбекистана через трофические связи

Класс	Число видов	Хозяин (промежуточный, дополнительный или резервуарный)
Cestoda	23	Ракообразные, Клещи, Насекомые, Рыбы, Рептилии, Млекопитающие
Trematoda	8	Моллюски, Насекомые, Рыбы, Амфибии, Рептилии, Птицы, Млекопитающие
Acanthocephala	3	Ракообразные, Насекомые, Рыбы
Nematoda	26*	Олигохеты, Насекомые, Ракообразные, Моллюски наземные, Позвоночные всех классов

** - 3 вида рода Capillaria могут развиваться как прямым путем, так и с участием резервуарных хозяев – дождевых червей.*

Заражение хищных млекопитающих гельминтами происходит разными путями, в зависимости от биоэкологических особенностей соответствующих групп и видов паразитических червей. Так, видами цестод, трематод, скребней и гетероксенными группами нематод хищные могут заражаться при поедании соответствующих беспозвоночных и позвоночных, содержащих личинок паразитов. Заражение гомоксенными нематодами происходит при поедании кормов, инфицированных яйцами или личинками гельминтов.

Мы попытаемся выяснить значение различных путей передачи инвазионных элементов в циркуляции рассматриваемых гельминтов. При этом использовали классификации способов попадания гельминтов в окончательного хозяина, предложеной Контримавичусом (1969).

Согласно данной классификации, гельминты попадают в окончательного хозяина следующими четырьмя путями:

1. Гельминт проникает в хозяина при поедании других организмов, которые, являясь промежуточными или резервуарными хозяевами, служат объектами его питания.

2. Гельминт попадает в хозяина в качестве механической примеси к корму или воде.

3. Паразит активно проникает в организм хозяина.

4. Гельминт передается промежуточным хозяином при питании на окончательном.

Указанные пути укладываются в рамках понятия «трофические» и «топические» связи гельминта и хозяина. В нашем материале, к паразитам, связанным с хозяином трофически, следует отнести часть гетероксенных видов гельминтов, заражение которыми происходит по первому типу, т.е. при поедании промежуточных, дополнительных или резервуарных хозяев как объектов питания. Сюда, мы с полным основанием можем отнести 23 вида цестод, 5 видов трематод* родов – *Plagiorchis, Echinochasmus, Euparyphium, Mesorchis, Alaria* и 20 видов нематод следующих семейств: Capillariidae, Dioctophymidae, Crenosomatidae, Spiruridae, Physolopteridae, Gnatostomatidae, Gonglyonematidae, Pneumospiruridae, Rictulariidae, Filaroididae, Onchocercidae. (** - два вида трематод *F. hepatica* и *D. dendriticum* и как факультативные паразиты хищных млекопитающих. Мы включаем по второму типу топических связей).

К гельминтам, инвазируюших хозяев по второму типу, относятся некоторые

виды нематод рода *Capillaria* и виды семейств –Trichocephalidae, Ascarididae, Anisakidae, Subuluridae, заражение которыми происходит топически. Гельминтам, третьего типа относятся виды родов – *Strongyloides, Ancylostoma, Uncinaria.* Здесь необходимо оговориться, что инвазионные личинки попадают в организм дефинитивного хозяина, либо перорально с кормом (водой), либо проникновением через кожу. Четвертый тип, также квалифицируется как топически. Здесь, инвазионные личинки передаются промежуточным хозяином при питании на окончательном. Сюда следует отнести виды родов – *Filaria, Dirofilaria* (табл. 5).

Таблица 5 – Распределение гельминтов хищных млекопитающих по способу заражения дефинитивного хозяина

Группа	Характер, ценотической связи	Способ заражения хозяина	Число видов			
			цестод	трематод	скребней	Нематод
1	Трофическая	Поедание животных – объектов питания	23 (100%)	6 (66,6%)	3 (100%)	20 (58,3%)
2	Топическая	Случайное заглатывание яиц или личинок	-	3 (33,3%)	-	5 (13,8%)
3	Топическая	Активное внедрение личинок через кожу	-	-	-	6 (16,6%)
4	Топическая	Передача насекомыми (двукрылыми) через укусы	-	-	-	3 (8,1%)

Таблица 6 – Естественная зараженность беспозвоночных Узбекистана личиночными стадиями гельминтов

Хозяин	Исследовано, экз.	Заражено личинками гельминтов, %			
		Цестод	Трематод	Скребней	Нематод
Олигохеты	1240	-	-	-	1,1
Молюски водные	5154	-	13,3	-	-
Молюски сухопутные	3445	-	1,3	-	1.0
Ракообразные	8690	1,1	-	0,5	0,1
Насекомые	4225	-	-	0,9	12,5
Всего	22754	1,1	14,6	1,4	14,7

В гельминтофауне хищных млекопитающих, обитающих в биогеоценозах Узбекистана, преобладают паразиты, сопряженные с дефинитивными хозяевами трофическими связями: цестоды – 100%, трематоды – 66,6%, скребни – 100% и нематоды – 58,3%. Об этом свидетельствуют данные таблицы 7 и 8, где приведены общие сведения о промежуточных, дополнительных и резервуарных хозяевах. В передаче инвазионных личинок псовым, куньим и кошачьим участвуют животные многих классов (табл. 9). Кратко рассмотрим роль каждого из них.

Олигохеты служат промежуточными хозяевами 5 видов нематод родов – *Capillaria, Thominx* и *Dioctophyma* паразитов хищников.

В этом отношении следует отметить, что капилляриды отличаются большим разнообразием. Среди них есть виды, развивающиеся с участием промежуточных хозяев (дождевых червей); виды, жизненный цикл которых протекает без участия промежуточных хозяев и виды, развитие которых может протекать двояко – либо прямым путем, либо с участием резервуарных хозяев (Рыжиков и др., 1978; Anderson, 2000). В нашем материале, для трёх видов капилляриид *(Capillaria plica, C. mucronata, Thominx aerophilus)* – дождевые черви являются промежуточными хозяевами, а для *C. putorii* – олигохеты служат резервуарными хозяевами. Биологический цикл нематоды *Dioctophyma renale* протекает с участием промежуточных хозяев, каковыми являются олигохеты, резервуарными – рыбы, главным образом, карпообразные (Сафарова, 2017). Заражение исследованных хищных животных капилляриидами происходит только при поедании олигохет, диоктофимидиями – при поедании рыб – резервуарных хозяев.

Моллюски служат промежуточными хозяевами 8 видов трематод следующих семейств – Fasciolidae, Plagiorchiidae, Dicrocoeliidae, Echinostomatidae, Alariidae и 3 видов нематод семейства Crenosomatidae. Для представителей последнего семейства, роль промежуточных хозяев выполняют наземные моллюски [12].

Исследованные олигохеты, моллюски, ракообразные и насекомые оказались инвазированными личиночными стадиями гельминтов. Зараженность отдельных групп исследованных животных колебалось от 1.1 до 14.7% (табл. 6).

Ракообразные являются промежуточными хозяевами целого ряда гельминтов, представителей цестод, скребней и нематод, отмеченных у хищных млекопитающих. Ракообразные выполняют роль промежуточных хозяев цестод – *D. latum* и *S. erinacei-europae,* рыбы – дополнительны. Для скребня *C. strumosum* – ракообразные являются промежуточными хозяевами, а резервуарными – рыбы. Развитие нематоды *Dracunculus medinensis* присходит с участием ракообразных, которые выполняют роль промежуточного хозяина.

Орибатидные клещи служат промежуточными хозяевами цестоды *M. lineatus.* Сюда вклиниваются также резервуарные хозяева, роль которых могут выполнять представители: рептилии, птицы и млекопитающие (Козлов, 1977).

Насекомые являются промежуточными хозяевами целого ряда цестод – *D. caninum,* скребней – *M. catulinus, M. moniliformis* и большинства видов нематод семейств Spiruridae, Physolopteridae, Gongylonematidae, Rictulluridae. У большей части нематод, в развитии участвуют и резервуарные хозяева, позвоночные всех классов и даже некоторые куньи (Контримавичус, 1969).

Рыбы принимают участие в качестве второго промежуточного хозяина в жизненных циклах цестод – *D. latum*, трематод – *E. perfoliatus*, и резервуарного – скребней – *C. strumosum* и нематод – *D. renale, S. lupi.*

Амфибии и рептилии зарегистрированы как промежуточные и резервуарные хозяева гельминтов хищных млекопитающих – куньих (Матевосян, 1963; Контримавичус, 1961). Амфибии и рептилии, в нашем материале оказались первыми, вторыми (дополнительными) и резервуарными хозяевами 7 видов гельминтов – *S. erinacei-europae, Joyeuxiella sp., M. lineatus, E. melis, E. perfoliatus, A. alata, S. lupi* – паразитов хищных млекопитающих Узбекистана.

Млекопитающие являются промежуточными и дополнительными хозяевами гельминтов [12]. В жизненных циклах цестод хищных плотоядных Узбекистана, они (грызуны, некоторые хищные – куньи, насекомоядные, зайцеобразные) участвуют либо промежуточными, либо дополнительными хозяевами 8 видов цестод - *S. erinacei-europae, J. rossicum, T. mustelae, T. martis, H. taeniae formis, H. krepkogorski* и *M. lineatus;* 1 вида трематод – *A. alat*a; для скребней – *M. catulinus;* 2 видов нематод (*T. canis, T. mystax)* резервуарными хозяевами.

Таким образом, эколого-трофические связи отдельных групп хищных млекопитающих (Canidae, Mustelidae и Felidae) в значительной степени определяют видовой состав – паразитирующих у них гельминтов и способствует формированию их гельминтофауны. Прочность биоценотических связей исследуемых хищных животных и их гельминтов, реализуемых через паразито – хозяинные отношения, следует полагать, определила и облик современной фауны гельминтов хищных млекопитающих и на территории Узбекистана.

Представленные материалы позволяют сделать некоторые обобщения. Первые исследования гельминтофауны хищных млекопитающих, на примере собак в условиях Узбекистана принадлежат известному русскому зоологу профессору А.П.Федченко, под руководством которого в 1868-1871 гг. на территории бывшего Туркестана работала специальная научная экспедиция. На материале исследований Федченко Г.Краббе (1879) и О.Линстов (1886) у собак Туркестана зарегистрировали 5 видов паразитических червей: *Taenia hydatigena, Multiceps multiceps, Dipylidium caninum, Toxocara canis* и *Spirocerca lupi.*

Изучением гельминтофауны собак на территории Узбекистана занимались целый ряд исследователей результаты которых обобщены Султановым и др. (1975) в монографии «Гельминты домашних млекопитающих Узбекистана», где сообщается наличие у собак 32 вида, паразитических червей, из которых 17 видов, могут паразитировать в различных стадиях развития и в организме человека [1, 12, 4, 29].

Результаты наших исследований, проведенные во многих регионах Узбекистана с охватом большого числа видов хищных млекопитающих, также показали довольно богатую фауну гельминтов, состоящих из представителей классов Cestoda, Trematoda, Acanthocephala и Nematoda. Нами зарегистрировано 70 видов гельминтов. Характерно, что видовое разнообразие сообщества паразитов домашних и диких хищных млекопитающих, связано с фауной паразитов многих видов и групп животных Узбекистана. В этом плане, гельминтофауна хищных уникальна и играет важную роль в формировании фаунистических комплексов гельминтов других позвоночных, включая и человека. Хищные вступают в роли доноров целого ряда видов, которыми заражаются представители других отрядов млекопитающих и классов позвоночных. Особенно показательно, роль практически, всех видов цестод, нескольких видов нематод родов *Dirofilaria, Ancylostoma, Toxocara, Spirocerca* в возникновении зоонозных гельминтозов. В данном случае, хищные млекопитающие участвуют в качестве облигатных хозяев гельминтов, расселяющих инвазионные элементы в разнотипные ландшафты.

Интерес к изучению гельминтофауны хищных плотоядных не ослабевает и в настоящее время. Об этом свидетельствуют многочисленные публикации, отражающие результаты исследования по различным вопросам сообщества гельминтов как домашних, так и диких хищников [30, 8, 21]. Объясняется это причинами двоякого характера. С одной стороны, среди гельминтозов хищных млекопитающих имеется значительное количество возбудителей опасных гельминтозов как домашних животных, так и человека. С другой стороны, все цестоды, трематоды, скребни и два вида нематод, с их уникальными жизненными циклями, являются объектами исследований, имеющих общезоологическую и общебиологическую направленности. Эти обстоятельства, как мы считаем, также актуальны и в настоящее время.

Представленные нами сведения по гельминтофауне хищных млекопитающих Узбекистана – одна из важных регионов Центральной Азии послужат основой для дальнейшего долгосрочного мониторинга гельминтологической ситуации.

Комплекс видов, составляющих фауну паразитических червей хищных млекопитающих Узбекистана значительно допол-

няют предшествующие данные литературы видового разнообразия гельминтов и их роль в возникновении зоонозных гельминтозов. В этом плане особого внимания заслуживают хищники, которые служат источником возбудителей таких гельминтозов, весьма опасных для человека и сельскохозяйственных животных – дифиллобатриоз, дипилидиоз, эхинококкоз, ценуроз, цистицеркоз, мезоцестоидоз, диоктофимоз, токсокароз, дирофиляриоз и др. В распространении этих гельминтозов, в природных и урбанизированных территориях Узбекистана, роль основного источника инвазий как мы полагаем, служат домашние собаки, следствием высокой их численности.

Знание фауны гельминтов хищных млекопитающих, распространение доминирующих видов и групп паразитических червей, чрезвычайно важно для обоснования и проведения противогельминтозных мероприятий. Оздоровление собак от гельминтозов является важным звеном профилактики зоонозных заболеваний человека и продуктивных животных.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведены комплексные исследования фауны паразитов домашних и диких хищных млекопитающих Узбекистана и определены сообщества гельминтов, состоящих из 70 видов гельминтов: цестоды состоят из 23 видов, трематоды - 8 видов, акантоцефалы - 3 вида и нематоды - 36 видов.

Общая зараженность хищных млекопитающих гельминтами составила – 79.8%. Интенсивность инвазии колебалась в широких пределах от единичных до несколько десятков экземпляров. В подавляющем большинстве случаев регистрируются смешанные инвазии несколькими видами гельминтов у зараженных животных от 3 до 9 видовых ассоциаций с различными модификациями.

Видовой состав гельминтов у хищных млекопитающих различных семейств распределен неравномерно. Видовое разнообразие паразитических червей составляет у псовых – 51 вид, кошачьих -40 и куньих – 35. Среди исследованных животных, наибольшим видовым составом гельминтов обладают популяции домашних собак (32) вида.

Определены трофико-экологические связи гельминтов хищных млекопитающих, способствующих формированию фаунистических комплексов гельминтов.

TROPHYCO-ECOLOGICAL RELATIONSHIPS OF PARASITES OF CARNIVOROUS MAMMALS IN UZBEKISTAN

Safarov A.A.[1*] – Doctor of Biology (ORCID 0000-0002-7073-9367); **Akramova F.D.**[2] – Doctor of Biology, Professor (ORCID 0000-0002-7662-3605); **Mukhitdinova N.F.**[3] – basic doctoral student (ORCID 0009-0002-9534-4027); **Abdukholikov H.H.**[4] – researcher (ORCID 0009-0005-5372-316X); **Abdieva T.J.**[5] – basic doctoral student (ORCID 0009-0004-8321-7463); **Karimova N.B.**[4] – researcher (ORCID 0009-0004-8796-0211); **Azimov D.A.**[2] – Academician of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Chief Scientific Officer. comp. (ORCID 0009-0008-8161-0084)

[1] Committee of Veterinary Medicine and Livestock Development of the Republic of Uzbekistan

[2] Institute of Zoology of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan

[3] Tashkent Branch of Samarkand State University of Veterinary Medicine, Animal Husbandry and Biotechnology

[4] Samarkand State University of Veterinary Medicine, Animal Husbandry and Biotechnology

[5] Nukus Branch of Samarkand State University of Veterinary Medicine, Animal Husbandry and Biotechnology

[*]safarov-alisher@mail.ru

Financing: *This research work was carried out within the framework of the fundamental project of the Institute of Zoology of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan entitled "Population ecology of pathogens and carriers of zoonotic diseases in the territory of Central Uzbekistan" under*

the number FL-8323102078.

ABSTRACT

The aim of this study is to identify the current species composition of helminths in carnivorous mammals in Uzbekistan, the pathways of parasite community formation, and the ecological characteristics of epizootologically significant species. This study also aims to substantiate the ecological and epizootological foundations for the prevention of parasitic diseases in animals. The material for this study was parasitofaunal collections from domestic and wild Carnivora carnivores from various regions of Uzbekistan. The trophic and ecological relationships between helminths and their carnivorous mammal hosts Canidae, Mustelidae, and Felidae of Uzbekistan were studied. The species diversity of helminths in domestic and wild carnivores has been established. The faunal composition of helminths in the studied carnivorous mammals is represented by four main taxonomic groups: Cestoda, Trematoda, Acanthocephala, and Nematoda, comprising a total of 70 species. Taxonomic analysis revealed a clear gradation based on the degree of host infestation: the highest species richness of helminths is characteristic of the Canidae family, with 51 species, followed by the Felidae family with 40 species, while the Mustelidae family exhibits the least diversity, with 35 species. Within families, the highest parasite species diversity was recorded in the fox (*Vulpes vulpes*) with 42 species and the domestic dog (*Canis lupus familiaris*) with 32 species. In contrast, the lowest values were observed in the weasel (*Mustela nivalis*) and otter (*Lutra lutra*). Based on their biological cycle, the helminths we recorded are classified as homoxenous (10 species) and heteroxenous (60 species). Oligochaete species, mollusks, crustaceans, and insects have been identified as intermediate hosts for carnivorous helminths. Helminth species of epizootological and epidemiological significance have been identified.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Абуладзе, К.И. Тениаты – ленточные гельминты животных и человека и вызываемые ими заболевания. Основы цестодологии // Москва: Наука, 1964. –том. 4. – 530 с.
2. Агринский, Н.И. Насекомые и клещи, вредящие сельскохозяйственным животным // Москва: из-во сельскохозяйственной литературы и плакатов, 1962. -288 с.
3. Азимов, Д.А., Дадаев, С.Д., Акрамова, Ф.Д., Сапаров, К.А. Гельминты жвачных животных Узбекистана. – Ташкент, 2015. -224 с.
4. Архипова, Д.Р. Зоогеография дирофиляриоза собак в России / Д.Р. Архипова, И.А. Архипов // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: Матер. докл. науч. конф. ВИГИС. – М., 2004. – Вып. 5. – С. 142-
5. Быкова, А.М. Гельминты Хищных млекопитающих (Canidae, Felidae, Mustelidae) в Омской области и их эколого-фаунистический анализ: Автореф. дис. канд. биол. наук. -Тюмень, 2007. -21.
6. Гинецинская, Т.А., Добровольский, А.А. Частная паразитология // Москва: Высшая школа, 1978. -293 с.
7. Делянова, Р.Ш. Гельминтофауна собак на территории Узбекистана // Узб. биол. журнал, 1958. №5. –С. 47-57.
8. Ибрагимов, Р.Ш. Пути формирования гельминтофауны домашних плотоядных животных на территории Азербайджана // Российский паразитол. Ж-л. -Москва, 2017. -№4. -С. 57-62.
9. Иргашев, И.Х. К вопросу изучения гельминтофауны домашних и диких плотоядных Самаркандской области // Узб.биол. журнал. 1958- № 5. – С. 39-45.
10. Кабилов, Т.К. Гельминты позвоночных животных Узбекистана, развивающиеся с участием насекомых // Ташкент: Фан, 1983. -128 с.
11. Кашкаров, Р.Д., Метропольская, Ю.О., Грицына, М.А., Тен, А.Г., Абдураупов, Т.В. Фауна и система мониторинга позвоночных животных Ташкентской области // Ташкент, 2020. -504 с.
12. Козлов, Д.П. Определитель гельминтов хищных млекопитающих СССР // Москва: Наука, 1977. -276 с.
13. Контримавичус, В.Л. Гельминтофауна

куньих и пути её формирования // Москва: Наука, 1969. -432 с.
14. Кощанов, Е.К. Гельминты диких млекопитающих Узбекистана: Автореф. дис… канд. биол. наук. – Ташкент, 1972. – 37 с.
15. Матевосян, Е.М. Дилепидоидеа – ленточные гельминты домашних и диких животных // Основы цестодологии. Москва: Изд-во АНСССР., 1963. -Том 3. - 687 с.
16. Муминов, П. Материалы по гельминтофауне диких плотоядных животных Узбекистана // Узб. биол. журнал, 1963. №6 - С. 44-49.
17. Муминов, П., Аллояров, А.М. Гельминты диких кошек Узбекистана и их связь с экологией хозяев // Узбекский биол. ж-л., 1963. №6. -С. 17-24.
18. Петров, А.М. К фауне паразитических червей домашних плотоядных Туркестана // Труды ГИЭВ, 1926. –Том 2. –Вып. 2. –С. 93-95.
19. Рыжиков, К.М., Гвоздев Е.В., Токобаев М.М. и др. Определитель гельминтов грызунов фауны СССР. Цестоды и трематоды // Москва, 1978. -175 с.
20. Сафаров, А. А., Акрамова, Ф. Д., Азимов, Д. А. Нематоды рода Dirofilaria Railliet et Henry, 1911 – паразиты хищных млекопитающих Узбекистана: особенности распространения и экологии // Российский паразитологический журнал. 2022. Т. 16. № 1. С. 101–111.
21. Сафаров, А.А., Акрамова, Ф.Д., Азимов, Д.А., Бердибаев, А.С. Распространение нематод рода Dirofilaria в Узбекистане // Узбекский биологический журнал. №5, 2021, 37-45 с.
22. Сафаров, А.А., Акрамова, Ф.Д., Тургунов, С.Н., Саидова, Ш.О., Мирзаева, А.У., Бердибаев, А.С., Шакарбоев, Э.Б., Эсонбоев, Ж.А., Азимов, Д.А., Ёркулов, Ж.М. Фауна гельминтов хищных млекопитающих (Canidae, Mustelidae, Felidae) Узбекистана // Журнал Научное обозрение. Биологические науки. – 2023. – № 4 – С. 39-52.
23. Сафаров, А.А., Кахаров, Б.А. Гельминтофауна куньих (Mustelidae Swainson, 1835) Узбекистана // Научно-практический журнал Инфекция, Иммунитет и Фармакология. Ташкент, 2023. - 57-62 с.
24. Сафаров, А.А., Норкобилов, Б.Т., Акрамова, Ф.Д., Азимов, Д.А., Мавлонов, С.И. Паразиты собак мегаполиса Ташкента // Ташкент: Фан, 2021. -156 с.
25. Скрябин, К.И. Методы полны гельминтологических вскрытий позвоночных, включая человека // Москва: МГУ, 1928. – 45 с.
26. Судариков, В.Е. Трематоды фауны СССР // Москва, 1984. -169 с.
27. Султанов, М.А., Сарымсаков, Ф.С., Муминов, П.А. и др. Паразитические черви животных Ферганской долины // Ташкент: Фан, 1971 – 268 с.
28. Черногаев, Е.А. Кадастровый справочник охотничье – промысловых животных Узбекистана // Ташкент: Фан, 1992. – 102 с.
29. Anderson, R.C. Nematoda parasites of Vertebrates their development and transmission. New York: CAB International, 2000. - 650 p.
30. Fabiano, M., Vieria, Jose L., Luque and Luis C., Muniz-Pereira. Checklists of helminth parasites in wild carnivore mammals from Brazil // Zootaxa, 2008. – N1721. – P. 1-23.
31. Safarov, A., Khan, A., Azimov, D., Akramova, F., Saparov, K., & Ben Said, M. Helminth Fauna in Carnivoran Mammals from Uzbekistan // Zoodiversity, 2023. 57 (4).
32. Safarov, A., Nasreen, N., Akramova, F., Djabbarov, Sh., Mirzaeva, A., Esonboey, J., Azimov, D., Said, MB. First report on ticks, mites, and other ectoparasites infesting carnivorous mammals in Uzbekistan // Journal Advances in Animal and Veterinary Sciences 2023.11(8): 1297-1306.
33. Safarov, A., Akramova, F., Azimov, D., Mihalca, A.D., Ionică A.M. Updates on the distribution and host spectrum of Dirofilaria repens in the Republic of Uzbekistan // Journal of Parasitology Research. 2021, 120, 3987–3992.
34. Safarov, A., Ionică, A., Akramova, F., Shakarbaev, U., Briciu, V., Ieremia, A., Azimov, D. A case of recurrent human Diro-

filaria repens infection in Uzbekistan // Journal of Helminthology, 97, E30. Published online by Cambridge University Press: 23 March 2023.
35. Safarov, A., Mihalca, A.D., Park, G.-M., Akramova, F., Ionic ̆a, A.M., Abdinabiev, O., Deak, G., Azimov, D. A Survey of Helminths of Dogs in Rural and Urban Areas of Uzbekistan and the Zoonotic Risk to Human Population // Pathogens 2022, 11, 1085.

REFERENCES

1. Abuladze, K.I. Taeniata – tapeworms of animals and humans and the diseases they cause. Fundamentals of Cestodology // Moscow: Science, 1964. – vol. 4. – 530 p.
2. Agrinsky, N.I. Insects and mites harmful to farm animals // Moscow: Publishing House of Agricultural Literature and Posters, 1962. -288 p.
3. Azimov, D.A., Dadaev, S.D., Akramova, F.D., Saparov, K.A. Helminths of ruminants of Uzbekistan. – Tashkent, 2015. -224 p.
4. Arkhipova, D.R. Zoogeography of canine dirofilariasis in Russia / D.R. Arkhipova, I.A. Arkhipov // Theory and Practice of Combating Parasitic Diseases: Proc. Reports of the Scientific Conf. VIGIS. - Moscow, 2004. - Issue 5. - P. 142-
5. Bykova, A.M. Helminths of Carnivorous Mammals (Canidae, Felidae, Mustelidae) in the Omsk Region and Their Ecological and Faunistic Analysis: Abstract of Cand. Sci. (Biol.) Dissertation. - Tyumen, 2007. -21.
6. Ginetsinskaya, T.A., Dobrovolsky, A.A. Private Parasitology // Moscow: Vysshaya Shkola, 1978. -293 p.
7. Delyanova, R.Sh. Helminth Fauna of Dogs on the Territory of Uzbekistan // Uzb. Biol. Journal, 1958. No. 5. -P. 47-57.
8. Ibragimov, R.Sh. Pathways of Formation of the Helminth Fauna of Domestic Carnivores in the Territory of Azerbaijan // Russian Journal of parasitology - Moscow, 2017. - №4. - P. 57-62.
9. Irgashev, I.Kh. On the Study of the Helminth Fauna of Domestic and Wild Carnivores of the Samarkand Region // Uzb. Biol. Journal. 1958- №5. - P. 39-45.
10. Kabilov, T.K. Helminths of Vertebrate Animals of Uzbekistan Developing with the Participation of Insects // Tashkent: Science, 1983. - 128 p.
11. Kashkarov, R.D., Metropolskaya, Yu.O., Gritsyna, M.A., Ten, A.G., Abduraupov, T.V. Fauna and Monitoring System of Vertebrate Animals of the Tashkent Region // Tashkent, 2020. -504 p.
12. Kozlov, D.P. Identifier of Helminths of Carnivorous Mammals of the USSR // Moscow: Science, 1977. -276 p.
13. Kontrimavicius, V.L. Helminth Fauna of Mustelids and Ways of Its Formation // Moscow: Science, 1969. -432 p.
14. Koshchanov, E.K. Helminths of Wild Mammals of Uzbekistan: Abstract of Cand. Sci. (Biol.) Dissertation. – Tashkent, 1972. – 37 p.
15. Matevosyan, E.M. Dilepidoidea – Tapeworms of Domestic and Wild Animals // Fundamentals of Cestodology. Moscow: Publishing House of the Academy of Sciences of the USSR, 1963. -Vol. 3. -687 p.
16. Muminov, P. Materials on the helminth fauna of wild carnivores of Uzbekistan // Uzb. biol. journal, 1963. No. 6. - P. 44-49.
17. Muminov, P., Alloyarov, A.M. Helminths of wild cats of Uzbekistan and their relationship with the ecology of the hosts // Uzbek biol. journal, 1963. No. 6. - P. 17-24.
18. Petrov, A.M. On the fauna of parasitic worms of domestic carnivores of Turkestan // Proceedings of the State Institute of Experimental Veterinary Medicine, 1926. - Vol. 2. - Issue 2. - P. 93-95.
19. Ryzhikov, K.M., Gvozdev E.V., Tokobaev M.M. et al. Identifier of helminths of rodents of the USSR fauna. Cestodes and trematodes // Moscow, 1978. - 175 p.
20. Safarov, A. A., Akramova, F. D., Azimov, D. A. Nematodes of the genus Dirofilaria Railliet et Henry, 1911 – parasites of predatory mammals of Uzbekistan: features of distribution and ecology // Russian Parasitological Journal. 2022. Vol. 16. No. 1. Pp. 101–111.
21. Safarov, A.A., Akramova, F.D., Azimov, D.A., Berdibaev, A.S. Distribution of nematodes of the genus Dirofilaria in Uzbekistan // Uzbek Biological Journal. No. 5, 2021, 37-45 p.
22. Safarov, A.A., Akramova, F.D., Tur-

gunov, S.N., Saidova, Sh.O., Mirzaeva, A.U., Berdibaev, A.S., Shakarboev, E.B., Esonboev, Zh.A., Azimov, D.A., Yorkulov, Zh.M. Helminth fauna of carnivorous mammals (Canidae, Mustelidae, Felidae) of Uzbekistan // Scientific Review. Biological Sciences. - 2023. - No. 4 - pp. 39-52.
23. Safarov, A.A., Kakharov, B.A. Helminth fauna of mustelids (Mustelidae Swainson, 1835) of Uzbekistan // Scientific and practical journal Infection, Immunity and Pharmacology. Tashkent, 2023. -57-62 p.
24. Safarov, A.A., Norkobilov, B.T., Akramova, F.D., Azimov, D.A., Mavlonov, S.I. Parasites of dogs of the Tashkent metropolis // Tashkent: Science, 2021. -156 p.
25. Skryabin, K.I. Methods are full of helminthological dissections of vertebrates, including humans // Moscow: Moscow State University, 1928. - 45 p.
26. Sudarikov, V.E. Trematodes of the fauna of the USSR // Moscow, 1984. -169 p.
27. Sultanov, M.A., Sarymsakov, F.S., Muminov, P.A., et al. Parasitic worms of animals of the Fergana Valley // Tashkent: Science, 1971. -268 p.
28. Chernogaev, E.A. Cadastral directory of game animals of Uzbekistan // Tashkent: Science, 1992. -102 p.
29. Anderson, R.C. Nematoda parasites of Vertebrates their development and transmission. New York: CAB International, 2000. - 650 p.
30. Fabiano, M., Vieria, Jose L., Luque and Luis C., Muniz-Pereira. Checklists of helminth parasites in wild carnivore mammals from Brazil // Zootaxa, 2008. – N1721. – P. 1-23.
31. Safarov, A., Khan, A., Azimov, D., Akramova, F., Saparov, K., & Ben Said, M. Helminth Fauna in Carnivoran Mammals from Uzbekistan // Zoodiversity, 2023. 57 (4).
32. Safarov, A., Nasreen, N., Akramova, F., Djabbarov, Sh., Mirzaeva, A., Esonboey, J., Azimov, D., Said, MB. First report on ticks, mites, and other ectoparasites infesting carnivorous mammals in Uzbekistan // Journal Advances in Animal and Veterinary Sciences 2023.11(8): 1297-1306.
33. Safarov, A., Akramova, F., Azimov, D., Mihalca, A.D., Ionică A.M. Updates on the distribution and host spectrum of Dirofilaria repens in the Republic of Uzbekistan // Journal of Parasitology Research. 2021, 120, 3987–3992.
34. Safarov, A., Ionică, A., Akramova, F., Shakarbaev, U., Briciu, V., Ieremia, A., Azimov, D. A case of recurrent human Dirofilaria repens infection in Uzbekistan // Journal of Helminthology, 97, E30. Published online by Cambridge University Press: 23 March 2023.
35. Safarov, A., Mihalca, A.D., Park, G.-M., Akramova, F., Ionic˘a, A.M., Abdinabiev, O., Deak, G., Azimov, D. A Survey of Helminths of Dogs in Rural and Urban Areas of Uzbekistan and the Zoonotic Risk to Human Population // Pathogens 2022, 11, 1085.

ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ, ФАРМАЦИЯ

УДК: 636.2.034:619:618.7:615.03
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.160

РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ПЕРЕНОСИМОСТИ ПРЕПАРАТА «ЭНДОСЕПТАМ»

Идиятов И.И. * – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории ветеринарной биотехнологии (ORCID 0000-0001-9279-4001); **Тремасова А.М.** – д-р биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории ветеринарной биотехнологии (ORCID 0000-0002-1706-134X); **Ганиев И.М.** – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории ветеринарной биотехнологии (ORCID 0000-0002-6171-5347); **Мусин Р.Р.** – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. лаборатории ветеринарной биотехнологии (ORCID 0009-0009-4538-2667); **Бирюля В.В.** – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории ветеринарной биотехнологии (ORCID 0000-0003-0428-0997).

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»

*idiyatov_ilgiz@mail.ru

Ключевые слова: *акушерско-гинекологические заболевания, коровы, препарат, переносимость.*

Key words: *obstetric and gynecological diseases, cows, drug, tolerance.*

Финансирование: *Работа выполнена в рамках Государственного задания по теме: «Разработка препарата для восстановления репродуктивной функции у животных при акушерско-гинекологических заболеваниях», регистрационный номер 122042600081-2.*

Поступила: 14.04.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Борьба с акушерско-гинекологическими заболеваниями у крупного рогатого скота, в частности эндометритами, является важным звеном в системе мероприятий по оздоровлению поголовья. При этом разработка эффективных комплексных средств и методов лечения и профилактики эндометритов является актуальной задачей ветеринарной медицины. Изучение переносимости животными целевого вида и выявление совокупности морфологических и функциональных нарушений при применении вновь созданных препаратов служит неотъемлемой частью доклинического исследования препаратов и позволяет сделать заключение о возможности выполнения дальнейших лабораторных и производственных испытаний. В настоящей статье представлены результаты изучения переносимости (безвредности) оригинального препарата «Эндосептам» для лечения и профилактики акушерско-гинекологических заболеваний в опыте на крупном рогатом скоте. Исследования включали общепринятые клинические, гематологические и микробиологические методы. Для

проведения опытов по принципу аналогов сформировали три группы клинически здоровых лактирующих коров по 6 животных в каждой: первая служила контролем, коровам второй группы внутриматочно вводили препарат «Эндосептам» в терапевтической дозе (100 мл четырехкратно с интервалом 24 часа), животным третьей группы – препарат вводили в дозе 300 мл четырехкратно с интервалом 24 часа. Установлено, что при применении препарата «Эндосептам» в терапевтической дозе и трехкратно ее превышающей негативного влияния на организм, в частности морфологических и функциональных нарушений отмечено не было, таким образом «Эндосептам» общетоксическим действием не обладает, безопасен и хорошо переносится животными целевого вида.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Нарушения воспроизводительной функции у крупного рогатого скота представляют определенные трудности развитию животноводства, проведение профилактических и лечебных мероприятий при акушерско-гинекологических патологиях служит важным звеном системы оздоровления поголовья [1]. Рынок ветеринарных препаратов представлен значительным ассортиментом средств профилактики и лечения данной патологии, однако далеко не всегда обеспечивается высокий терапевтический эффект при их использовании, весьма разнятся количество и кратность применения препаратов [2]. Установлено, что при использовании антибиотиков не только возникает резистентность возбудителей, но и повышается риск развития осложнений, усиливается тяжесть заболевания [3-7]. Лечение животных, больных эндометритами, предполагает применение целого ряда препаратов, разнонаправленного действия [8]. В связи с этим возникает необходимость в разработке эффективных комплексных средств и методов лечения и профилактики заболеваний репродуктивных органов у животных [9].

Доклиническое исследование лекарственных средств позволяет определить их специфическую фармакологическую активность, показания к применению и противопоказания, а также профиль безопасности [10, 11]. Оценка переносимости в опытах на животных при многократном применении в терапевтической и повышенной дозах позволяет выявить возможные морфологические и функциональные нарушения в организме на фоне как длительного приема препарата, так и передозировке [1, 12]. Проведение последующих лабораторных и производственных испытаний препарата становятся возможным при получении положительных результатов оценки переносимости на целевых животных. Выявленные в ходе исследований реакции, влияющие на соотношение положительных терапевтических эффектов препарата к риску, связанному с его применением, способствуют ограничению применения или запрету использования препарата [13].

Целью нашего исследования являлось изучение переносимости или безвредности оригинального препарата «Эндосептам», предназначенного для лечения и профилактики акушерско-гинекологических заболеваний, в опыте на крупном рогатом скоте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Испытания препарата «Эндосептам» проведены в условиях одного из сельскохозяйственных предприятий Республики Татарстан. Препарат разработан в отделении биотехнологии ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», представляет собой раствор, в состав которого входят в качестве: действующих веществ хлоргексидина биглюканат, пропранолола гидрохлорид, вспомогательных веществ - диметилсульфоксид, 1,2-пропиленгликоль, дистиллированная вода. «Эндосептам» оказывает противовоспалительное действие, стимулирует сократительную способность миометрия, обладает антимикробной активностью в отношении ряда грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, устойчивых к антибиотикам, проявляет фунгистатическую активность [14]. Для проведения опытов по принципу

аналогов сформировали три группы клинически здоровых лактирующих коров по 6 животных в каждой: первая служила контролем, коровам второй группы внутриматочно вводили препарат «Эндосептам» в терапевтической дозе (100 мл четырехкратно с интервалом 24 часа), животным третьей группы – препарат вводили в дозе 300 мл четырехкратно с интервалом 24 часа. Перед введением препарата наружные половые органы коров обрабатывали 0,1 % раствором перманганата калия. В ходе эксперимента вели ежедневное наблюдение за животными, оценивали клиническое состояние, поведение, потребление корма и воды. В начале опыта и на пятнадцатые сутки у подопытных коров отбирали для последующего анализа пробы крови и цервикальной слизи. Забор крови проводили из хвостовой вены в вакуумные пробирки. Исследование морфологических показателей крови осуществляли с использованием анализатора «Mythic 18 Vet» («Orphee Geneva», Швейцария). Биохимические исследования выполняли на анализаторе «ChemWell 2902» (Awareness Technology, США) с применением наборов реагентов (SPINREACT, Испания), анализ общего белка сыворотки крови осуществляли рефрактометрическим методом, белковых фракций – турбидиметрическим (нефелометрическим). Отбор цервикальной слизи осуществляли в стерильные флаконы, затем в лабораторных условиях проводили высев материала на микробиологические питательные среды, культивирование и последующее микроскопическое исследование выросших колоний микроорганизмов.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel. Достоверными считали различия сравниваемых показателей при 95 % доверительной вероятности ($p \leq 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Клиническое состояние коров опытных групп при применении препарата «Эндосептам» в продолжение всего эксперимента не имело отличий с контрольными животными, патологических состояний или симптомов интоксикации отмечено не было. Температура тела, частота пульса и дыхания не имели достоверно значимых различий (таблица 1). Подопытные животные одинаково активно потребляли корм и воду.

Таблица 1 – Параметры клинического статуса коров при испытании переносимости препарата «Эндосептам»

Показатель	На 15 сут. эксперимента		
	Группа I	Группа II	Группа III
Температура тела, °С	38,62±0,21	38,53±0,12	38,55±0,24
Пульс, уд. /мин	71,50±1,89	71,50±2,80	72,67±1,87
Дыхание, дых. движ. /мин	21,50±0,47	22,00±0,63	22,50±0,68

Примечание: сравнение проводилось со значениями группы I (контроль)

Кровь выполняет значимые и многообразные функции в организме, изменение состава крови является диагностическим симптомом развития в органах и системах патологических процессов. Так при введении коровам препарата Эндосептам в терапевтической дозе на 15 сут. эксперимента отмечали повышение в сравнении с контролем на 1,3 % концентрации в крови эритроцитов, на 5,8 % - лейкоцитов, 2,2 % - гемоглобина. Содержание общего белка в сыворотке крови у коров данной группы превысило контроль на 1,7 %, активность АЛТ была

выше на 1,8 %, креатинина – 2,1 %, уровень холестерина повысился на 5,4 %, глюкозы – 1,4 % (таблица 2).

Содержание эритроцитов и лейкоцитов в крови коров, которым Эндосептам вводили в дозе, трехкратно превышающей терапевтическую, на 15 сут эксперимента увеличилось по сравнению с контролем на 3,4 и 2,5 %, соответственно. Концентрация гемоглобина была ниже на 1,2 %. Уровень общего белка в сыворотке крови превысил контроль на 1,0 %, активность АСТ понизилась на 3,8 %, амилазы – на 2,4 %. Содержание холестерина было выше на 6,8 %, креатинина – на 2,2 %, глюкозы – 1,9 % в сравнении с контролем.

Таким образом, в ходе изучения переносимости или безвредности оригинального препарата «Эндосептам» было установлено, что морфологические и биохимические показатели крови коров, которым внутриматочно вводили препарат в терапевтической дозе и трехкратно ее превышающей, не имели достоверно значимых различий со значениями анализируемых параметров животных контрольной группы. Микрофлора влагалищной слизи у коров опытных групп соответствовала параметрам здоровых животных. Общетоксического действия на животных целевого вида препарат не оказывает.

Таблица 2 – Гематологические показатели коров при испытании переносимости препарата «Эндосептам»

Показатель	На начало эксперимента	На 15 сут. эксперимента		
		Группа I	Группа II	Группа III
Эритроциты, $\times 10^{12}$/л	5,17±0,06	5,26±0,08	5,33±0,05	5,44±0,14
Лейкоциты, $\times 10^{9}$/л	9,00±0,16	8,50±0,22	8,99±0,29	8,71±0,50
Гемоглобин, г/л	100,38±3,39	101,14±2,34	103,36±3,77	99,96±2,57
Общий белок, г/л	68,92±0,78	68,68±1,05	69,84±1,10	69,34±1,17
Альбумины, %	47,13±0,71	45,23±1,02	46,08±0,85	45,02±1,01
α-глобулины, %	17,42±0,16	17,47±0,11	17,20±0,37	17,25±0,28
β-глобулины, %	14,72±0,22	14,44±0,25	14,68±0,22	14,48±0,21
γ-глобулины, %	20,73±1,23	22,35±1,25	21,73±1,42	22,77±0,99
АЛТ, Ед/л	20,04±0,52	20,45±0,68	20,81±0,77	20,41±0,54
АСТ, Ед/л	26,29±0,96	27,58±1,09	27,32±0,44	26,52±0,51
Щелочная фосфатаза, Ед/л	73,67±3,25	73,73±2,86	73,40±1,20	75,00±2,04
Холестерин, ммоль/л	3,19±0,09	2,96±0,10	3,12±0,09	3,16±0,16
Креатинин, мкмоль/л	46,32±1,24	46,24±1,50	47,21±0,95	47,23±1,16
Амилаза, Ед/л	57,60±1,23	59,10±1,40	57,83±1,27	57,66±1,18
Глюкоза, ммоль/л	3,86±0,17	3,68±0,16	3,73±0,13	3,75±0,16

*Примечание - * - p <0,05, сравнение проводилось со значениями группы I (контроль)*

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

На основании полученных данных установили, что при применении препарата «Эндосептам» в терапевтической дозе и трехкратно ее превышающей негативного влияния на организм, в частности морфологических и функциональных нарушений отмечено не было, таким об-

разом «Эндосептам» общетоксическим действием не обладает, безопасен и хорошо переносится животными целевого вида.

THE RESULTS OF THE STUDY OF THE TOLERABILITY OF THE DRUG «ENDOSEPTAM»

Idiyatov I.I.* – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher at the Laboratory of Veterinary Biotechnology (ORCID 0000-0001-9279-4001); **Tremasova A.M.** – Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher at the Laboratory of Veterinary Biotechnology (ORCID 0000-0002-1706-134X); **Ganiev I.M.** – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher at the Laboratory of Veterinary Biotechnology (ORCID 0000-0002-6171-5347); **Musin R.R. –** Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of Veterinary Biotechnology (ORCID 0009-0009-4538-2667); **Biryulya V.V.** – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher at the Laboratory of Veterinary Biotechnology (ORCID 0000-0003-0428-0997).

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety

* idiyatov_ilgiz@mail.ru

ABSTRACT

The fight against obstetric and gynecological diseases in cattle, in particular endometritis, is an important link in the system of measures for the improvement of livestock. At the same time, the development of effective complex means and methods of treatment and prevention of endometritis is an urgent task of veterinary medicine. The study of animal tolerance of the target species and the identification of a set of morphological and functional disorders in the use of newly created drugs is an integral part of the preclinical study of drugs and allows us to conclude that further laboratory and industrial tests can be performed. This article presents results of studying the tolerability of the original drug «Endoseptam» for the treatment and prevention of obstetric and gynecological diseases in cattle experiments. The studies included conventional clinical, hematological, and microbiological methods. To conduct the experiments, three groups of healthy lactating cows were formed, with 6 animals in each: the first served as a control, the cows of the second group were intrauterinely injected with the drug "Endoseptam" in a therapeutic dose (100 ml four times with an interval of 24 hours), the animals of the groups were injected with the drug in a dose of 300 ml four times with an interval of 24 hours.

It was found that when using the drug «Endoseptam» at a therapeutic dose and three times its maximum, there was no negative effect on the body, in particular morphological and functional disorders, thus «Endoseptam» has no general toxic effect, is safe and well tolerated by animals of the target species.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. О проблеме эндометритов сельскохозяйственных животных и методах их лечения / И. М. Ганиев, Ю. М. Тремасов, А. М. Тремасова [и др.] // Ветеринарный врач. – 2024. – № 1. – С. 6-12. – DOI 10.33632/1998-698X_2024_1_6. – EDN THWZTG.

2. Поиск и разработка способа терапии при послеродовых эндометритах у коров / С. П. Перерядкина, А. А. Болдарев, П. В. Колесников, В. А. Гальченко // Международный вестник ветеринарии. – 2020. – № 2. – С. 204-209. – EDN MGAYJI.

3. Балбуцкая, А. А. Антибиотикограмма микроорганизмов, выделенных от больных острым эндометритом коров / А. А. Балбуцкая, В. Н. Скворцов, С. С. Белимова // Ветеринарный врач. – 2019. – № 5. – С. 4-10. – DOI 10.33632/1998-698X.2019-5-4-10. – EDN BNPHLB.

4. Микробиоценоз половых путей у коров при остром послеродовом эндометрите / Р.Р. Хамидуллин, А.М. Тремасова, И.И. Идиятов [и др.] // Ветеринарный врач. – 2023. – № 1. – С. 64-69. – DOI 10.33632/1998-698X_2023_1_64. – EDN KYPNXO.

5. Опыт применения пробиотика Энтероспорин / А.В. Иванов, Л.Е. Матросова,

Л.Г. Бурдов [и др.]. // Птицеводство. - 2011. - № 12. - С. 15.
6. Изучение действия нового средства на процесс формирования биопленок бактериями, участвующими в развитии эндометрита у коров / Р. Р. Хамидуллин, А. М. Тремасова, И. М. Ганиев, Ю. М. Тремасов // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2022. – № 8. – С. 121-125. – EDN TAYABB.
7. Оценка воздействия пробиотических штаммов на инфузории / И. И. Идиятов, С. Р. Хабирова, А. М. Тремасова [и др.] // Ветеринарный врач. – 2020. – № 3. – С. 21 -27. – DOI 10.33632/1998-698X.2020-3-21-27. – EDN GEPXKN.
8. Баймишев Х. Эффективность лечения послеродового эндометрита у коров // Ветеринария сельскохозяйственных животных. - 2023. - № 3. - С. 25-30.
9. Отечественные препараты для лечения коров с острым катарально-гнойным эндометритом / А. М. Семиволос, В. А. Агольцов, И. И. Калюжный, С. А. Семиволос // Научная жизнь. – 2023. – Т. 18, № 5(131). – С. 774-781. – DOI 10.35679/1991-9476-2023-18-5-774-781. – EDN SOZJOD.
10. Миронов, А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. / А. Н. Миронов – М. : Гриф и К, 2012. – 944 с.
11. Токсикологическая оценка консорциума микроорганизмов для использования с целью повышения качества кормов / А. М. Тремасова, И. И. Идиятов, Ю. М. Тремасов, А. И. Ерошин // Вестник Марийского государственного университета. Серия: Сельскохозяйственные науки. Экономические науки. – 2020. – Т. 6, № 3 (23). – С. 318-325. – DOI 10.30914/2411-9687-2020-6-3-318-324. – EDN PFKQMS.
12. Коба, И. С. Оценка переносимости крупным рогатым скотом лекарственного препарата на основе клопростенола / И. С. Коба, Л. А. Хахов, Ю. С. Белкина // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2022. – Т. 252, № 4. – С. 122-127. – DOI 10.31588/2413_4201_1883_4_252_122. – EDN COCUFG.
13. Шелякин, И. Д. Изучение безвредности (переносимости) Уникокцида на кроликах / И. Д. Шелякин, С. Н. Семенов, Л. В. Ческидова // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. – 2024. – № 25. – С. 457-461. – DOI 10.31016/978-5-6050437-8-2.2024.25.457-461. – EDN LVKNGB.
14. Изучение антибактериальной и фунгистатической активности средства для лечения и профилактики эндометритов у коров / И. М. Ганиев, Р. Р. Хамидуллин, А. М. Тремасова [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2023. – Т. 253, № 1. – С. 77-81. – DOI 10.31588/2413_4201_1883_1_253_77. – EDN UAGTAY.

REFERENCES

1. On the problem of endometritis of farm animals and methods of their treatment / I. M. Ganiev, Yu. M. Tremasov, A.M. Tremasova [et al.] // Veterinarian. - 2024. – No. 1. - pp. 6-12. – DOI 10.33632/1998-698X_2024_1_6. – EDN THWZTG. (In Russ.)
2. Search and development of a method of therapy for postpartum endometritis in cows / S. P. Pereryadkina, A. A. Boldarev, P. V. Kolesnikov, V. A. Galchenko / / International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2020. – No. 2. - pp. 204-209. – EDN MGAYJI. (In Russ.)
3. Balbutskaya, A. A. antibioticogram of microorganisms isolated from cows with acute endometriitis / A. A. Balbutskaya, V. N. Skvortsov, S. S. Belimova // A veterinarian. – 2019. – No. 5. - pp. 4-10. – DOI 10.33632/1998-698X.2019-5-4-10. – EDN BNPHLB. (In Russ.)
4. Microbiocenosis of the genital tract in cows with acute postpartum endometritis / R. R. Khamidullin, A.M. Tremasova, I. I. Idiyatov [et al.] // Veterinarian. – 2023. – No. 1. - pp. 64-69. – DOI 10.33632/1998-698X_2023_1_64. – EDN KYPNXO. (In Russ.)
5. Experience in the use of probiotic Enterosporin / A.V. Ivanov, L. E. Matrosova, L.

G. Burdov [et al.]. // / Poultry farming. - 2011. - No. 12. - S. 15. (In Russ.)
6. Study of the effect of a new agent on the formation of biofilms by bacteria involved in the development of endometritis in cows / R. R. Khamidullin, A.M. Tremasova, I. M. Ganiev, Yu. M. Tremasov / / Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy, 2022, No. 8, pp. 121-125. – EDN TAYABB. (In Russ.)
7. Evaluation of the effects of probiotic strains on ciliates / I. I. Idiatov, S. R. Khabirova, A.M. Tremasova [et al.] // Veterinarian. - 2020. – No. 3. - pp. 21-27. – DOI 10.33632/1998-698X.2020-3-21-27. – EDN GEPXKN. (In Russ.)
8. Baymishev H. effectiveness of treatment of postpartum endometritis in cows // Veterinary medicine of farm animals. - 2023. - No. 3. - pp. 25-30. (In Russ.)
9. Domestic drugs for the treatment of cows with acute catarrhal-purulent endometritis / A.M. Semivolos, V. A. agoltsov, I. I. Kalyuzhny, S. A. Semivolos // Scientific life. - 2023. - Vol. 18, No. 5(131). - pp. 774-781. – DOI 10.35679/1991-9476-2023-18-5-774-781. – EDN SOZJOD. (In Russ.)
10. Mironov, A. N. guidelines for conducting preclinical studies of medicines. Part one. / A. N. Mironov. – M. : grif and k, 2012. – 944 p. (In Russ.)
11. Toxicological assessment of a consortium of microorganisms for use to improve the quality of feed / A.M. Tremasova, I. I. Idiatov, Yu. M. Tremasov, A. I. Eroshin // Bulletin of the Mari State University. Series: Agricultural Sciences. Economic sciences. – 2020. - Vol. 6, No. 3(23). - pp. 318-325. – DOI 10.30914/2411-9687-2020-6-3-318-324. – EDN PFKQMS. (In Russ.)
12. Koba, I. S. assessment of the tolerance of a drug based on cloprostenol by cattle / I. S. Koba, L. A. khakhov, Yu.S. Belkina // Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman. – 2022. - Vol. 252, No. 4. - pp. 122-127. – DOI 10.31588/2413_4201_1883_4_252_122. – EDN COCUFG. (In Russ.)
13. Shelyakin, I. D. studying the harmlessness (tolerance) of Unicoxide in rabbits / I. D. Shelyakin, S. N. Semenov, L. V. Cheskidova // theory and practice of combating parasitic diseases. – 2024. – No. 25. - pp. 457-461. – DOI 10.31016/978-5-6050437-8-2.2024.25.457-461. – EDN LVKNGB. (In Russ.)
14. Study of antibacterial and fungistatic activity of agents for the treatment and prevention of endometritis in cows / I. M. Ganiev, R. R. Khamidullin, A.M. Tremasova [et al.] // Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman. – 2023. - Vol. 253, No. 1. - Pp. 77-81. – DOI 10.31588/2413_4201_1883_1_253_77. – EDN UAGTAY. (In Russ.)

УДК: 619:636.2:579
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.167

ИНТЕГРИРОВАННЫЙ ПОДХОД К ПРОБЛЕМЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ НА ЖИВОТНОВОДЧЕСКИХ ПРЕДПРИЯТИЯХ СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Безбородова Н.А. – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. отдела геномных исследований и селекции животных (ORCID 0000-0003-2793-5001); **Исакова М.Н. –** канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. отдела репродуктивной биологии и неонатологии (ORCID 0000-0001-7130-5627); **Соколова О.В. –** д-р ветеринар. наук, вед. науч. сотр. отдела геномных исследований и селекции животных (ORCID 0000-0002-1169-4090); **Кривоногова А.С. –** д-р биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории биологических технологий отдела ветеринарно-лабораторной диагностики с испытательной лабораторией (ORCID 0000-0003-1918-3030); **Зубарева В.Д.** – мл. науч. сотр. отдела геномных исследований и селекции животных (ORCID 0000-0003-0284-0276); **Суздальцева М.А.**[*] **–** ст. науч. сотр. отдела ветеринарно-лабораторной диагностики с испытательной лабораторией (ORCID 0000-0003-1528-1987)

ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук»

[*]*lady.suzdaltseva2014@yandex.ru*

Ключевые слова: *крупный рогатый скот, антимикробные препараты, ротация препаратов, мониторинг, антибиотикорезистентность, гены резистентности, диагностика, гигиена, дезинфекция.*

Key words*: cattle, antimicrobial drugs, antibiotic rotation, monitoring, antibiotic resistance, resistance genes, diagnostics, hygiene, disinfection.*

Финансирование: *Работа проведена в рамках Государственного задания Минобрнауки России № 0532-2021-0004 «Разработка методологических подходов к мониторингу, контролю и сдерживанию антибиотикорезистентности оппортунистических микроорганизмов в животноводстве».*

Поступила: 10.07.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Последнее десятилетие ведутся активные исследования, направленные на снижение развития резистентности микроорганизмов. Однако, даже при жестком регулировании использования противомикробных препаратов, проблема устойчивости сохраняется. Также возрастает проблема появления устойчивых штаммов, которые способны передаваться человеку, в том числе при употреблении продуктов животного происхождения. Вышеуказанные факты становятся проблемой в борьбе с таким заболеванием животных как мастит, лечение которого

основано на применении антимикробных препаратов. В результате чего исследования, направленные на изучение чувствительности возбудителей мастита у коров к антибактериальным препаратам, и разработка подходов для предупреждения распространения антибиотикорезистентности является актуальным. Работа проведена в период 2023-2024 гг. на территории Свердловской области. Для идентификации микроорганизмов использовали культуральный метод исследования и MALDI-TOF (масс-спектрометрия), также определяли чувствительность к антибактериальным препаратам и дезинфицирующим средствам с использованием диско-диффузионного метода и в соответствии с рекомендациями EUCAST. Была проведена ПЦР-диагностика с целью определения ДНК микроорганизмов и генов резистентности к АМП. Проведенные исследования позволили выявить доминирующих возбудителей мастита у коров – *S. aureus* (100%), *E. coli* (70-75%), *E. faecalis/faecium* (60%). У выделенных изолятов определены основные гены устойчивости: *E. coli* - *bla*CTX-M, *bla*OXA10 отвечающие за резистентность к фторхинолонам, ампициллинам; *S. aureus* - *mec*A определяющие резистентность к β-лактамам; *Streptococcus spp.* и *Staphylococcus spp. Erm*B - устойчивость к макролидам; *P. aeruginosa bla*VIM/ *bla*NDM - невосприимчивость к карбапенемам. В результате полученных данных даны рекомендации по проведению профилактических мероприятий на сельскохозяйственных предприятиях по гигиене и дезинфекции, контролю резистентности выявленных изолятов бактерий, управлению стадом, оптимизации доения, экологическому контролю.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Антибиотикорезистентность микроорганизмов является серьезной проблемой современного здравоохранения и ветеринарии, ставя под угрозу эффективность лечения инфекций как у человека, так и у животных [1-3]. Применение противомикробных препаратов в ветеринарии необходимо для лечения болезней, вызванных инфекционными агентами животных, с целью поддержания их здоровья и обеспечения безопасности продуктов животного происхождения. Однако бесконтрольное и чрезмерное использование этих препаратов ведет не только к формированию устойчивых микроорганизмов, но и ускоряет появление устойчивых штаммов, которые способны передаваться человеку через пищу, воду, продукты животного происхождения или контакт с животными [4-8]. Острой проблемой так же встает снижение эффективности препаратов, применяемых в медицине, за счет их частого использования в ветеринарии, например, таких как фторхинолоны, важные для медицины, в связи с чем устойчивость к ним осложняет лечение инфекций у людей. Еще одной проблемой являются остаточные количества антибактериальных веществ в пищевых продуктах – нарушение сроков выведения препаратов может приводить к их накоплению в мясе, молоке и яйцах, повышая риск развития резистентности у потребителей [9-11,3,4].

Последнее десятилетие ведутся активные исследования, направленные на снижение резистентности микроорганизмов. В ветеринарной практике основной из мер, позволяющих предотвращать развитие устойчивости микроорганизмов, является разумное применение антибиотиков, то есть использование их только по назначению ветеринарного врача, со строгим соблюдением дозировки и длительности лечения. Многие отечественные и зарубежные авторы предлагают разные подходы, направленные на снижение использования антимикробных препаратов в схемах лечения животных, к ним можно отнести: вакцинацию, внедрение биологических методов защиты например, карантинные меры, биобезопасность при искусственном осеменении и родовспоможении у коров – контроль и регулирование в сфере оборота АМП, мониторинг остатков АМП в пищевых продуктах, соблюдение международных рекомендаций (ВОЗЖ, WOAH, FAO), применение природоподобных технологий для снижения использования АМП или совместное их применение

(пробиотики, пребиотики, бактериофаги, бактериоцины, фитобиотики, кремнийсодержащие препараты, экстракт серебра и т.д.) [12-15,3,7,11]. Исследованиями установлено, что рекомбинантные противомикробные пептиды представляют собой многообещающее направление, способное частично заменить традиционные антибиотики и снизить нагрузку на существующие противомикробные препараты. Данное перспективное направление в разработке пептидных антибиотиков, может стать ключом к решению глобальной проблемы устойчивости к антибиотикам [16].

В настоящее время существуют масштабные инициативы по регулированию антибиотикорезистентности – концепция «Единое здоровье» (One Health), которая объединяет усилия медицины, ветеринарии и экологии для борьбы с антимикробной резистентностью (AMR). В ЕС с 2006 года запрещено использование антибиотиков в качестве стимуляторов роста, а с 2022 года введены дополнительные ограничения. ВОЗЖ и FAO призывают страны разрабатывать национальные стратегии по сокращению применения антибиотиков в животноводстве [17]. Опыт Франции и важность контроля устойчивых бактерий показал, что многолетний план Ecoantibio (2012-2021), разработанный Министерством сельского хозяйства, привел к значительному сокращению применения антибиотиков в ветеринарии – на 45% за 10 лет. Однако, как показывает практика, даже при жестком регулировании использования противомикробных препаратов, проблема устойчивости сохраняется. Это доказывает то, что антибиотикорезистентность у бактерий формируется не только из-за терапии, но и вследствие других механизмов, таких как горизонтальный перенос генов резистентности [18].

Таким образом, сохранение эффективности противомикробных препаратов требует ответственного подхода: строгого контроля их применения, внедрения альтернативных методов и международного сотрудничества в области антибиотикорезистентности микроорганизмов, что позволит защитить здоровье животных и человека в долгосрочной перспективе [19,20].

Цель исследования - оценить чувствительность возбудителей мастита у коров к антибактериальным препаратам и дезинфицирующим средствам и предложить интегральный подход в системе противомаститных мероприятий для предупреждения распространения антибиотикорезистентности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Работа проведена в отделе геномных исследований и селекции животных, в лаборатории микробиологических и молекулярно-генетических методов исследования и лаборатории биологических технологий отдела ветеринарно-лабораторной диагностики с испытательной лабораторией Уральского НИВИ – структурного подразделения ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН.

Проведено исследование эффективности антимикробной терапии у крупного рогатого скота и дезинфекционных мероприятий на молочно-товарных предприятиях Свердловской области. Работа выполнялась в шести сельскохозяйственных предприятиях с акцентом на комплексный анализ ситуации. Методология исследований включала: клинико-диагностические исследования, отбор биологических проб, полный микробиологический анализ с идентификацией выделенных изолятов, определение антибиотикочувствительности выделенных культур, молекулярно-генетический скрининг на наличие генов резистентности, оценку эффективности различных схем антимикробной терапии, ротации антибиотиков и дезинфицирующих средств.

Биологический материал для лабораторных исследований, поступивший в 2023-2024 гг. из 6 молочно-товарных предприятий, представлен в таблице 1.

Микробиологические исследования с определением чувствительности к антибактериальным препаратам и дезинфицирующим средствам: СХП 1 (2023-2024 гг.) – препараты комбинированного типа

используемые при лечении мастита у коров, содержащие в своем составе антибиотики группы цефалоспоринов, аминогликозидов, тетрациклинов и полипептидный антибиотик, также средства, применяемые для обработки сосков вымени перед и после доения (средства на основе хлоргексидина и йода СХП 2 (2023 год) - препараты широкого спектра действия комбинированного типа (группа полусинтетических пенициллинов, аминогликозиды, тетрациклины, цефалоспорины II поколения и пептидные антибиотики); СХП 3, 4, 5 (2023 год), СХП 6 (2024 год) – стандартные наборы дисков с проведением MALDI-TOF (масс-спектрометрия).

Культуральные исследования проводили в соответствии с методическими указаниями «Методические указания по бактериологическому исследованию молока и секрета вымени коров (утв. Главным управлением ветеринарии Минсельхоза СССР 30 декабря 1983 г. N 115-69)».

Резистентность определяли дискодиффузионным методом в соответствии с рекомендациями МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам».

В работе использовали питательные среды: «Основа колумбийского кровяного агара» («БиоРад», США), дефибринированная кровь барана (ЗАО «ЭкоЛаб», Россия), питательная среда для накопления сальмонелл сухая (Магниевая среда), Висмут-сульфит агар, агар Плоскирева (Оболенск, Россия), питательный агар для культивирования микроорганизмов ГРМ-агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия), агар Сабуро с 2% глюкозы и хлорамфениколом (SIFIN diagnostics, Германия), агар Мюллера-Хинтон (Sifin, Германия), триптиказо-соевый бульон с 20 % глицерином (Conda, Испания), («Копан», Италия).

Таблица 1 – Биологический материал, поступивший на лабораторные исследования (2023-2024 гг.)

№ СХП	Количество отобранных проб	Вид биологического материала	Год взятия материала
СХП 1	3 пробы	секрет молочной железы от коров с субклиническим маститом	2023 год
	16 проб	секрет молочной железы от коров с субклиническим маститом	2024 год
СХП 2	16 проб	секрет молочной железы от коров с признаками субклинического мастита	2023 год
	5 проб	секрет молочной железы от коров с признаками хронического мастита	2023 год
	1 проба	экссудат из абсцесса вымени	2023 год
СХП 3	28 проб	секрет молочной железы от коров с признаками мастита и условно здоровых животных	2023 год
СХП 4	1 объединенная проба	смывы с родильного отделения (кормовой стол, поилки, ограждение, цепи), профилактория (кормушки, поилки, ограждение), с доильного зала (ограждение, стены, пол)	2023 год
СХП 5	3 объединенных пробы	пробы сквашенного молока из резервуара для хранения, предназначенные для поения телят	2023 год
	3 объединенных пробы	секрет молочной железы от коров с маститом	2023 год
СХП 6	3 объединенных пробы	секрет молочной железы от коров с маститом	2024 год

MALDI-TOF (масс-спектрометрия) выполняли на анализаторе VITEK MS (n=23) с определением чувствительности к антибактериальным препаратам на автоматическом анализаторе антибиотикограмм ДДМ Adagio на базе ООО "Кволити Мед" (Екатеринбург).

Чувствительность к антибактериальным препаратам была выполнена в соответствии с рекомендациями EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing), использованы критерии оценки Clinical breakpoints - bacteria (v 10.0), 2020.

В работе использовали стандартный набор дисков – амоксициллин/клавулановая кислота, гентамицин, левофлоксацин, норфлоксацин, цефепим, цефиксим, цефоперазон, цефотаксим, цефподоксим, цефтазидим, цефтриаксон, ципрофлоксацин, цефтиофур) («БиоРад», Франция).

ПЦР-диагностика включала в себя выделение ДНК из биоматериала с помощью тест-системы «Diatom DNA Prep 200» (компания ООО «ИзоГен», Москва) и наборы реагентов для выявления ДНК микроорганизмов и генов резистентности к АМП «РЕЗИСТОМ КОМПЛЕКС (*E. coli, Staphylococcus spp., P. aeruginosa, Enterobacter spp., E.faecalis/faecium, S. aureus, K. pneumoniae*)» (ООО «Литех», Москва). Амплификацию проводили в режиме реального времени с использованием анализатора QuantStudio 5 (США).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате исследований в СХП 1 в 2023 году установили, что при субклиническом мастите во всех пробах (100%) секрета молочной железы преобладали изоляты *S. aureus* и *E. coli* с выявленной сохранённой чувствительностью к применяемым комбинированным антибактериальным препаратам (антибиотики группы цефалоспоринов, аминогликозидов, тетрациклинов и полипептидный антибиотик), но проявляющими устойчивость к стандартным дезинфицирующим средствам используемым до и после доения (0,5% хлоргексидин и йодсодержащие препараты). В 2024 году после коррекции схем лечения на предприятии и проведения лабораторных исследований была подтверждена эффективность ротации антимикробных препаратов, которая подтверждала сохранение чувствительности к цефалоспоринам и β-лактамам у выделенных изолятов из 16 проб секрета молочной железы коров (*S. aureus* - 93,9%, *E. coli/Enterobacter* - 75,0%, *Streptococcus spp.* - 45,8%, *E. faecalis* - 31,3%). Методом ПЦР выявлен единичный случай карбапенем-резистентной *P. aeruginosa* (гены *bla*VIM, *bla*NDM). На основании полученных данных за 2 года в СХП 1 установлен постоянный резервуар условно-патогенной микрофлоры в окружающей среде, который способен вызывать бактериальные заболевания, болезни вымени коров, также неэффективность стандартных обработок сосков вымени коров до и после доения и подтверждена необходимость регулярной смены используемых дезинфицирующих средств.

В СХП 2 при микробиологическом исследовании секрета молочной железы от коров с признаками воспаления во всех пробах были выделены патогенные бактериальные изоляты, обладающие устойчивостью к АМП и обнаруженными генетическими детерминантами резистентности, что представлено в таблице 2.

По результатам, представленным в таблице, установили, что в 100% проб был выявлен *S. aureus*, в 70% проб непатогенный тип *E. coli* и условно-патогенная группа *Streptococcus spp.*, в 60% биоматериала изоляты *E. faecalis*, в 50% биопроб выявлен вид плесневых грибов *Penicillium* spp., в 20% проб *E. faecium*, единично род бактерий *Enterobacter spp.* и вид плесневых грибов *Mucor*. Известно, что плесневые грибы способны вызывать мастит как первично, так и наслаиваться на маститы другой этиологии, в основном после длительного лечения антибактериальными препаратами [4,13]. При определении резистентности к антибиотикам у всех выделенных изолятов *E.coli* и у 90% *S. aureus* определена чувствительность к препаратам широкого спектра действия из группы полу-

синтетических пенициллинов, аминогликозидам, тетрациклинам, цефалоспоринам II поколения и пептидным антибиотикам, применяемым в хозяйстве. Резистентность к данным препаратам наблюдалась у 90% изолятов *E. faecalis* и *E. faecium*.

При дополнительном исследовании культуральным способом с идентификацией микроорганизмов методом MALDI-TOF (масс-спектрометрия) в пробах секрета молочных желез от коров с хроническим маститом выявлены изоляты *E. faecalis* (10^5 КОЕ/мл), чувствительные при стандартном дозировании к левофлоксацину и ципрофлоксацину (группа фторхинолоны), ампициллину (группа пенициллины) и гентамицину (аминогликозиды). Обнаружены *Bacillus altitudinis/pumilus* (10^2 КОЕ/мл), *Corynebacterium bovis* (10^4 КОЕ/мл). Известно, что *Corynebacterium bovis* является одним из условно-патогенных возбудителей мастита крупного рогатого скота, проявлявший чувствительность к пенициллинам, цефалоспоринам и фторхинолонам [21].

Таблица 2 – Выделенные микроорганизмы из секрета молочной железы коров, их чувствительность к АМП и гены резистентности, СХП 2

Микроорганизм	Частота выделения (%)	Чувствительность	Резистентность	Гены резистентности
S. aureus	100%	Полусинтетические пенициллины, аминогликозиды, цефалоспорины II поколения	10% изолятов резистентны к цефалоспоринам II поколения	*MecA*, *ErmB*
E. coli	70%	Цефалоспорины II поколения, тетрациклины	фторхинолоны, цефалоспорины I поколения, ампициллины	*blaCTX-M*, *blaOXA10*
Streptococcus spp.	70%	Фторхинолоны, цефалоспорины	Макролиды, линкозамиды (при *ErmB*)	*ErmB*
E. faecalis / E. faecium	60%	Левофлоксацин, ципрофлоксацин, ампициллин, гентамицин	90% штаммов резистентны к стандартным схемам лечения	-
Penicillium spp.	50%	-	-	-
Corynebacterium bovis	30%	Пенициллины, цефалоспорины, фторхинолоны	-	-

ПЦР-исследования показали, что в 70 % проб секрета молочных желез от коров была обнаружена ДНК *E.coli*, обладающая генами резистентности *bla*CTX-M/ *bla*OXA10, отвечающими за устойчивость к фторхинолонам, цефалоспоринам 1 поколения и ампициллинам. В 10 % проб определена ДНК *S. aureus* с наличием гена устойчивости (MecA) к цефалоспоринам 2 поколения, а также геномы *Staphylococcus spp.* с генами-мутации (ErmB), отвечающими за резистентность к группе макролидов, линкозамидов и стрептограмину В. В одной пробе обнаружен геном *S.agalactiae* (*Erm*B), устойчивый к группе макролидов, линкозамидов и стрептограмину В.

Выявлены основные источники и пути распространения возбудителей мастита. Установлен первичный резервуар инфекции, которым являются коровы с хронической формой мастита, в частности, с наличием изолятов *S. aureus* и *Str. agalactiae* и животные с субклиническим течением заболевания. Определены условно-патогенные микроорганизмы: *E. coli*

(основной источник – загрязненная подстилка), *E. faecalis* (фекальное загрязнение), *Corynebacterium bovis* (кожные покровы вымени), *C. difficile* (почва, навоз). На основании выделенных возбудителей из секрета молочной железы при мастите рекомендовали осуществлять строгий контроль за подготовкой молочной железы к доению операторами машинного доения, с целью исключения передачи контагиозных возбудителей, ключевыми факторами передачи которых являлись контаминированное доильное оборудование и общие предметы ухода за животными, недостаточно обработанные соски вымени средствами до и после двоения, руки операторов машинного доения. Для снижения циркуляции возбудителей мастита в стаде необходимо проводить постепенную выбраковку хронически больных маститом коров, а также животных, трудно поддающихся лечению. Разработана стратегия ротации дезинфицирующих средств, включающая в себя ежеквартальную периодичность их смены (каждые 3 месяца), основной критерий включал в себя чередование действующих веществ разных групп, с целью предотвращения адаптации микрофлоры, например, в 1 квартале применение йодсодержащих препаратов (1-1,5% растворы), во 2 квартале средств на основе хлоргексидина (0,5-1% растворы), а в 3 квартале на основе органических кислот (молочная/пероксиуксусная кислоты 2-4%). На основе полученных результатов рекомендовали протоколы внутрицистернальной терапии при мастите, включающие препараты выбора: тетрациклины, комбинированные препараты (колистин + неомицин + преднизолон), энрофлоксацин 5 мг/мл. Предложен алгоритм выбора схемы лечения, который подразумевает проведение первичных тестов на 5-10 животных. При оценке схемы лечения через 48 часов учитывали динамику соматических клеток, из которой регистрировали снижение уровня соматических клеток в диапазоне до 250-400 тыс./мл, клиническое улучшение состояния молочной железы, местных реакций, с рекомендацией обязательного контроля эффективности (микробиологический мониторинг на чувствительность изолятов 1 раз в 6 месяцев).

Таблица 3 – Выделенные микроорганизмы из секрета молочной железы коров и их чувствительность к АМП, СХП 3

Вид микроорганизмов	Концентрация (КОЕ/мл)	Тип передачи	Чувствительность к антибиотикам	Рекомендуемые антибиотики
S. aureus	Высокая (10^5-10^6)	Контагиозный	Цефалоспорины 2-го поколения, аминогликозиды	Цефтиофур, гентамицин
Corynebacterium bovis	Средняя (10^3-10^4)	Контагиозный	Пенициллины, цефалоспорины	Ампициллин, цефазолин
S. dysgalactiae	Высокая (10^4-10^5)	Контагиозный	Цефалоспорины, фторхинолоны	Цефкином, энрофлоксацин
S. haemolyticus	Средняя (10^3-10^4)	Контагиозный	Ванкомицин, линезолид	Ванкомицин (при резистентности к β-лактамам)
E. faecalis/ faecium	Низкая (10^2-10^3)	Неконтагиозный	Ампициллин, фторхинолоны	Ампициллин, ципрофлоксацин
E. coli	Низкая (10^2-10^3)	Неконтагиозный	Цефалоспорины 3-го поколения, карбапенемы	Цефотаксим, меропенем

В ходе микробиологических исследований с идентификацией микроорганизмов методом MALDI-TOF (масс-спектрометрия) в СХП 3 во всех исследованных 14 пробах секрета молочной железы у коров с признаками воспаления была обнаружена различная концентрация микроорганизмов КОЕ/мл (таблица 3).

В результате исследований в образцах обнаружены изоляты *S. aureus* (доминирующий патоген), *Corynebacterium bovis, S. disgalactiae, S. haemolyticus, E. faecalis/faecium, E. coli.* У условно здоровых коров выявлены те же микроорганизмы, но в меньших титрах (в низкой и средней концентрации, КОЕ/мл) в сравнении с пороговыми значениями для диагностики мастита (Бактериологически значимый уровень: для *Staphylococcus* spp. и *Streptococcus* spp.: $\geq 10^3$ КОЕ/мл, для E. coli: $\geq 10^2$ КОЕ/мл (из-за высокой вирулентности даже при низких титрах) (National Mastitis Council (NMC, 2017) [22] и в сравнении с показателями клинически здоровых коров, у которых в норме микрофлора $<10^3$ КОЕ/мл (преимущественно непатогенные коагулазонегативные стафилококки, Corynebacterium bovis), при субклинической инфекция - 10^3–10^4 КОЕ/мл, а при клиническом мастите - $>10^5$ КОЕ/мл [23-26]. Известно, что *S. aureus, Corynebacterium bovis, S. dysgalactiae, S. haemolyticus* относятся к контагиозным возбудителям воспалительных заболеваний молочной железы у коров, передача которых осуществляется во время процесса доения через доильное оборудование и руки персонала. *E. faecalis, E. faecium, E. coli* – экзогенные патогены, которые проникают в молочную железу животных из окружающей среды, заражение происходит между доениями через контаминированную подстилку, воду, а также за счет контакта с выделениями от больных животных. Выявленные изоляты проявляли чувствительность к аминогликозидам, фторхинолонам, пенициллинам, карбапенемам, цефалоспоринам 2 поколения, макролидам и тетрациклинам. Отмечена устойчивость к ципрофлоксацину при увеличенной экспозиции. Даны рекомендации по профилактике заболеваний молочной железы коров, которые включали в себя строгое соблюдение гигиенических мероприятий по время технологии доения, а именно осуществление доения коров с использованием операторами машинного доения одноразовых перчаток с их регулярной заменой или обработкой в дезинфицирующем растворе, с контролем чистоты и активности используемого раствора дезинфектанта; использование одноразовых салфеток; обработку сосков дезинфицирующими средствами; использование промежуточной промывки доильного оборудования. Рекомендации во время отдыха животных включали в себя обеспеченность чистоты стойл, за счет регулярной уборки и наличия достаточного количества опила; своевременную раздачу корма после доения для обеспечения стоячего положения коровы после доения с целью снижения проникновения микроорганизмов через сосковый канал до его закрытия. В обязательном порядке проводить контроль за режимом доения, включающий настройку доильных аппаратов, своевременную замену сосковой резины, соблюдение порядка доения. На основании результатов рекомендовали осуществлять ежегодные микробиологические исследования, включающие выделение микроорганизмов из секрета молочной железы, их подтитровку к антибиотикам, с целью мониторинга этиологических агентов при мастите у коров и контроля развития резистентности, а также оценки лечебных мероприятий. При подборе антибиотиков в схемах лечения мастита предлагали учитывать данные антибиотикограммы, при появлении устойчивости у микроорганизмов прописывали своевременную замену используемых АМП.

При проведении микробиологических и микологических исследований в пробах подстилочного материала, поступившего из СХП 4 выявляли изоляты - *S. aureus, E. faecalis, E. faecium*, не патогенный тип бактерии рода *Enterobacter spp., P. aeru-*

ginosa, плесневые грибы рода *Penicillium* spp. В объединённой пробе смывов, взятых с родильного отделения (кормостол, поилки, ограждение, цепи), профилактория (кормушки, поилки, ограждение), с доильного зала (ограждение, стены, пол) был обнаружен рост бактерий *S. aureus, E. faecalis, E. faecium, Enterobacter spp.* (не патогенный тип), плесневых грибов рода *Mucor, Penicillium* spp. Все выявленные бактериальные изоляты обладали хорошей чувствительностью к большому спектру групп АМП (аминогликозиды, фторхинолоны, пенициллины, карбапенемы, цефалоспорины 2 поколения, макролиды, тетрациклины). Наличие одинаковых видов и родов патогенных и условно-патогенных бактерий и плесневых грибов, говорит о циркуляции данных микроорганизмов на территории сельскохозяйственного предприятия. Даны рекомендации по профилактике мастита у коров и улучшению гигиены содержания, включающие в себя ежедневную замену подстилочного материала, использование абсорбирующих материалов (опилки, солома), обработку подстилки дезинфектантами (каустическая сода 2%, формалин 0,5%), регулярную механическую очистку кормушек и поилок, дезинфекцию доильных залов 2 раза в сутки, с постоянным проведением контроля влажности в помещениях для содержания животных (не более 70%).

В СХП 5 проведены ПЦР и микробиологические исследования объединенных проб сквашенного молока для выпойки телятам и маститного молока от коров, которые показали высокую контаминацию бактериальными патогенами (таблица 4).

Таблица 4 – Результаты лабораторных исследований молока в СХП 5

Вид пробы	Выявленные микроорганизмы	Уровень контаминации (КОЕ/мл)	Резистентность	Чувствительность
Сквашенное молоко для телят и маститное молоко от коров	*Staphylococcus aureus* (патогенный)	10^3-10^5	β-лактамы (ограниченная)	Цефалоспорины II-III поколения
	Escherichia coli (условно-патогенная)	10^4-10^5	Фторхинолоны, аминогликозиды	Цефалоспорины III поколения
	Klebsiella oxytoca	10^3-10^4	Цефалоспорины I-III поколения	Фторхинолоны
	Staphylococcus spp.	10^2-10^3	Макролиды, линкозамиды	Гликопептиды

В пробах сквашенного и маститного молока обнаружены изоляты: *S. aureus* (патогенный), *E. coli* (условно-патогенная, устойчивая к фторхинолонам и аминогликозидам), *Klebsiella oxytoca* (устойчивая к цефалоспоринам I–III поколения), *Staphylococcus spp.* (с множественной устойчивостью к макролидам, линкозамидам и стрептограмину В). Известно, что использование такого молока для выпойки телятам может привести к развитию кишечных инфекций (*E. coli, Klebsiella*), формированию резистентной микрофлоры у молодняка, дисбактериозу после антибиотикотерапии, большого количества случаев мастита у первотелок. Рекомендации включали в себя запрет на использование маститного молока для выпойки телятам и показания для утилизации молока от коров с маститом, обязательным замещением на заменители цельного молока (ЗЦМ) или использованием только пастеризованного молока от здоровых коров. Осуществление мер, направленных на правильную утилизацию молока со сгустками, от коров которым приме-

нялись антибиотики, в обязательном порядке проводить обработку емкостей для сбора молока антисептическими растворами. Для снижения бактериальной нагрузки были предложены меры, включающие в себя, ежедневную дезинфекцию резервуаров и оборудования (обработка 3% перекисью водорода или 0,5% хлоргексидином), для удаления биопленок еженедельное использование горячего раствора щелочи (2%). Для контроля качества молока регулярный ПЦР-мониторинг на *S. aureus, E. coli, Klebsiella* и пастеризация молока для телят (65°С, 30 мин).

На основании полученных данных была предложена тактика лечения мастита у коров: при выявлении *S. aureus* показано применение цефалоспоринов II поколения (цефтиофур, цефкином), альтернатива – защищенные пенициллины (амоксициллин/клавуланат); при обнаружении *E. coli* – цефалоспорины III поколения (цефтазидим), альтернатива – фосфомицин (если нет резистентности); при наличии *Klebsiella oxytoca* – фторхинолоны (левофлоксацин, ципрофлоксацин), альтернатива – карбапенемы (имипенем) в тяжелых случаях. Для профилактики распространения устойчивых штаммов предложена ротация антибиотиков (не использовать одну группу АМП более 2 недель), рекомендовано осуществление контроля за персоналом (а именно, повышение квалификации операторов машинного доения по правилам гигиены и технологии доения), возможность применения вакцин против *S. aureus* и *E. coli* и мониторинг резистентности 1 раз в 3 месяца.

Проведённый спектр лабораторных исследований отобранных проб сборного молока в СХП 6 показал высокую долю выявления бактериальных патогенов, что представлено в таблице 5.

Проба	Микроорганизмы (КОЕ/мл)	Возбудитель в зависимости от источника инфекции	Резистентность	Чувствительность	Гены резистентности
№1	*Staphylococcus sciuri* (10^2)	Контагиозный	-	Широкий спектр	-
	Streptococcus uberis (10^3)	Экзогенный	Макролиды, линкозамиды	Цефуроксим (при коррекции дозы)	*ErmB*, *mecA*
№2	*Klebsiella oxytoca* (10^3)	Экзогенный	Пенициллин/ Новобиоцин	Фторхинолоны	-
	Streptococcus uberis (10^5)	Экзогенный	Макролиды	Цефалоспорины	*ErmB*
	Trueperella pyogenes (10^4)	Экзогенный	-	β-лактамы	-
№3	*Streptococcus agalactiae* (10^5)	Контагиозный	Тетрациклин	Цефалоспорины	-

При микробиологическом исследовании сборного молока №1 выделены изоляты *S. sciuri* 10^2 КОЕ/мл и *S. uberis* 10^3 КОЕ/мл. В пробе молока №2 выявлен изолят *Klebsiella oxytoca* 10^3 КОЕ/мл, устойчивый к антибиотикам пенициллин/новобиоцин, а также изолят *S. uberis* 10^5 КОЕ/мл, чувствительный к цефуроксиму при увеличенной экспозиции (достигается коррекцией способа введения, дозы, интервала дозирования, времени инфузии) и изолят *Trueperella pyogenes* 10^4 КОЕ/мл. В пробе молока №3 обнаружены изоляты *S. agalactiae* 10^5 КОЕ/мл резистентные к тетрациклину.

Проведенные ПЦР-исследования на наличие генов резистентности (*Erm*B, *Van*A/B, *mec*A) у кокковых форм бактерий *S. uberis* установили гены *Erm*B, ответственные за устойчивость к антибио-

тикам группы макролидов, линкозамидов, старептограмина В. Также наличие у изолята *S. uberis* генов устойчивости *mec*A к бета-лактамным антибиотикам пенициллинового ряда (метициллин, оксициллин). У всех выделенных изолятов отсутствовали гены *Van*A/B ответственные за резистентность к антимикробным препаратам группы гликопептидов (ванкомицин, тейкопланин). С учетом выявленных возбудителей в СХП 6 рекомендовано применять препараты групп цефалоспоринов и фторхинолонов против возбудителей *S. agalactiae* и *S. uberis*. Осуществлять меры профилактики мастита с учетом контагиозного и экзогенного источника заражения молочной железы коров.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате проведенных исследований были выявлены доминирующие возбудители мастита у коров – *S. aureus* (выявлен в 100% проб при субклинических маститах), *E. coli* (70-75% проб, включая устойчивые штаммы), *Streptococcus spp.* (*S. agalactiae, S. uberis* – 45-50% проб). Также установлены условно-патогенные микроорганизмы – *E. faecalis/faecium* (60% проб, высокая резистентность), *Klebsiella oxytoca* (устойчива к цефалоспоринам I-III поколения), *Corynebacterium bovis* (30% проб) и грибковая контаминация – *Penicillium spp.* (50% проб), *Mucor* spp. (25% проб). Определены основные гены устойчивости: *bla*CTX-M, *bla*OXA10 у E. coli, отвечающие за резистентность к фторхинолонам, ампициллинам; *mec*A у *S. aureus* определяющие резистентность к β-лактамам; *Erm*B у *Streptococcus* spp. и *Staphylococcus* spp. - устойчивость к макролидам; *bla*VIM/*bla*NDM у *P. aeruginosa* - невосприимчивость к карбапенемам. Дополнительно выявлены критические точки, при которых 90% *E. faecalis/faecium* оказались устойчивы к стандартным схемам лечения, применяемым на СХП, а изоляты *Klebsiella oxytoca* обладали резистентностью к цефалоспоринам I-III поколения. На основании полученных и обобщенных данных была определена эффективная стратегия лечения, которая представлена в таблице 6.

Таблица 6 – Стратегия применения лечебных мероприятий, СХП 1-6

Микроорганизм	Антибиотики выбора	Альтернативные антибиотики
S. aureus	Цефалоспорины II поколения (цефтиофур)	Клоксациллин
E. coli	Цефалоспорины III поколения	Окситетрациклин
S.agalactiae	Пенициллин G	Цефтиофур
K.oxytoca	Фторхинолоны (левофлоксацин)	Карбапенемы
E. faecalis	Ампициллин + гентамицин	Амоксициллин

Для каждого СХП были даны персонализированные рекомендации, в зависимости от полученных данных. СХП 1 в связи с доминированием в пробах *S. aureus* и *E. coli* с выявленной устойчивостью к стандартным дезинфекционным средствам (хлоргексидин, йод), эффективностью АМП (цефалоспорины, аминогликозиды) к выделенным микроорганизмам, наличию резистентности микрофлоры к дезинфекционным препаратам применяемым до и после доения и выявленной карбапенем-резистентной *P. aeruginosa* (гены *bla*VIM, *bla*NDM) рекомендации включали ротацию дезинфекционных средств каждые 3 месяца: 1 квартал - йодсодержащие препараты (1-1,5%); 2 квартал - вещества на основе хлоргексидина (0,5-1%); 3 квартал - органические кислоты (молочная/пероксиуксусная, 2-4%); обработку доильного оборудования после каждого доения (3% перекись водорода); лечение мастита у коров при выявлении в секрете молока *S. aureus* (цефтиофур, гентамицин), *E. coli* (цефтазидим или фосфомицин), P. aeruginosa (карбапенемы

(имипенем) + контроль за распространением).

Для СХП 2 был рекомендован контроль резистентности, включающий обязательный мониторинг генов *mec*A, *bla*CTX-M 1 раз в 6 месяцев, запрет на использование фторхинолонов при выявлении в пробах *E. coli*. Антибиотикотерапия: при высевании изолята *S. aureus* применение цефалоспоринов II поколения (цефкином), *E. coli* - цефалоспоринов III поколения (цефотаксим), *Streptococcus spp.* - фторхинолонов (энрофлоксацин). Соблюдение гигиены и обработка сосков (перед доением — 0,5% хлоргексидин/ после доения — барьерные препараты (например, на основе ланолина), дезинфекция подстилки 2% каустической содой.

Рекомендации для СХП 3 включали в себя применение АМП (цефтиофур + гентамицин, цефкином или энрофлоксацин, цефотаксим) у коров с признаками воспаления молочной железы, как альтернативу применение вакцинации против *S. aureus*, ежеквартальные бактериологические исследования молока, соблюдение мер дезинфекции доильных аппаратов.

В СХП 4 в связи с контаминацией подстилки и доильного оборудования бактериальными патогенами *S. aureus, E. faecalis*, *Penicillium* spp. были даны рекомендации, включающие в себя контроль гигиены содержания (ежедневная замена подстилки (опилки + солома), проведение дезинфекции (2% каустическая сода (подстилка), 0,5% формалин (стены, пол), обработка доильного зала 2 раза в сутки (перекись водорода 3%)), контроль влажности (<70%).

Для СХП 5 рекомендации состояли из запрета на выпойку маститного молока телятам, применения ЗЦМ (заменители цельного молока) или пастеризованного молока (65°С, 30 мин), дезинфекции оборудования (ежедневно 0,5% хлоргексидин, еженедельно 2% горячий щелочной раствор), при лечении маститов применение АМП группы фторхинолонов.

Для СХП 6 была предложена антибиотикотерапия при маститах у коров с применением цефуроксима с обязательной коррекцией дозы препарата, АМП группы цефалоспорины III поколения, возможность применение вакцинации против стрептококков, в качестве профилактических мер - контроль доильных процедур (гигиена рук и одежды операторов).

По результатам исследований даны рекомендации, включающие в себя ротацию антибактериальных препаратов согласно методическим рекомендациям "Рациональная антибиотикотерапия воспалительных заболеваний репродуктивной системы и молочной железы коров в животноводческих предприятиях Свердловской области" (2023) в соответствии с Приказом Минсельхоза России №771 от 18 ноября 2021 года «Об утверждении перечня лекарственных препаратов, предназначенных для лечения инфекционных и паразитарных болезней животных, вызываемых патогенными микроорганизмами и условно-патогенными микроорганизмами, в отношении которых вводится ограничение на применение в лечебных целях, в том числе для лечения сельскохозяйственных животных» и с учетом профиля антибиотикочувствительности бактерий.

AN INTEGRATED APPROACH TO THE PROBLEM OF ANTIBIOTIC RESISTANCE SPREAD IN FARMS IN THE SVERDLOVSK REGION

Bezborodova N.A. – Cand. Vet. Sci., Senior Researcher, Department of Genomic Research and Animal Breeding (ORCID 0000-0003-2793-5001); **Isakova M.N.** – Cand. Vet. Sci., Senior Researcher, Department of Reproductive Biology and Neonatology (ORCID 0000-0001-7130-5627); **Sokolova O.V.** – Dr. Vet. Sci., Leading Researcher, Department of Genomic Research and Animal Breeding (ORCID 0000-0002-1169-4090); **Krivonogova A.S.** – Dr. Biol. Sci., Leading Researcher, Laboratory of Biological Technologies, Department of Veterinary Laboratory Diagnostics with Testing Laboratory (ORCID 0000-0003-1918-3030); **Zubareva V.D.** – Junior Researcher, Depart-

ment of Genomic Research and Animal Breeding (ORCID 0000-0003-0284-0276); **Suzdaltseva M.A.*** – Senior Researcher, Department of Veterinary Laboratory Diagnostics with Testing Laboratory (ORCID 0000-0003-1528-1987).

FSBSI «Ural Federal Agrarian Scientific Research Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Science»

**lady.suzdaltseva2014@yandex.ru*

Financing: *This work was carried out as part of the State Assignment of the Ministry of Science and Higher Education of Russia No. 0532-2021-0004, «Development of methodological approaches to monitoring, controlling, and containing antibiotic resistance of opportunistic microorganisms in animal husbandry».*

ABSTRACT

Over the past decade, research has been directed to reduce the development of microbial resistance. However, even with strict regulation of the use of antimicrobial drugs, the problem of resistance remains. The problem of the emergence of resistant strains that can be transmitted to humans is also increasing, especially with consuming animal products. The above facts are becoming a problem in the fight against such a disease as mastitis, the treatment of which is based on the use of antimicrobial drugs. As a result, research aimed at studying the sensitivity of mastitis pathogens in cows to antibacterial drugs and the development of approaches to prevent antibiotic resistance spread is relevant. The work was carried out in the period 2023-2024 in the Sverdlovsk region. For microorganism identification a cultural method and MALDI-TOF (mass spectrometry) were used, and sensitivity to antibacterial drugs and disinfectants was also determined using the disk diffusion method in accordance with EUCAST recommendations. For detection of microorganism's DNA and resistance genes to antimicrobial drugs PCR diagnostics were used. The studies revealed the dominant causative agents of mastitis in cows were *S. aureus* (100%), *E. coli* (70-75%), *E. faecalis*/*faecium* (60%). The main resistance genes were determined in *E. coli* isolates – *blaCTX-M*, *blaOXA-10* responsible for resistance to fluoroquinolones, ampicillins; *S. aureus – mecA* associated with resistance to β-lactams; *Streptococcus spp*. and *Staphylococcus spp*. *ErmB* – resistance to macrolides; *P. aeruginosa blaVIM*/*blaNDM* – resistance to carbapenems. Based on the data obtained, recommendations were given for the implementation of preventive measures on hygiene and disinfection, control of resistance of identified bacterial isolates, herd management, milking optimization, and environmental control on farms.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Плешакова В.И., Лещева Н.А., Кошкин И.Н. Фенотипические и молекулярно-генетические методы определения антибиотикорезистентности микроорганизмов в ветеринарии // Вестник Красноярского государственного аграрного университета - №. 8 (197) - 2023, С. 106-115. DOI:10.36718/1819-4036-2023-8-106-115

2. Показатели качества молока высокопродуктивных коров на фоне применения противомаститной вакцины / М. Н. Исакова, У. В. Сивкова, М. В. Ряпосова [и др.] // Ветеринария сегодня. – 2020. – № 4 (35). – С. 255-260. DOI 10.29326/2304-196X-2020-4-35-255-260

3. Pinto Jimenez CE, Keestra S, Tandon P, Cumming O, Pickering AJ, Moodley A, Chandler CIR. Biosecurity and water, sanitation, and hygiene (WASH) interventions in animal agricultural settings for reducing infection burden, antibiotic use, and antibiotic resistance: a One Health systematic review. Lancet Planet Health. 2023 May; 7(5): e418-e434. DOI: 10.1016/S2542-5196(23)00049-9

4. Проблемы антибиотикорезистентности в современном мире / Л. В. Хорошевская, А. П. Хорошевский, М. И. Сложенкина, А. А. Мосолов // Аграрно-пищевые инновации. – 2021. – № 4 (16). – С. 47-54. – DOI 10.31208/2618-7353-2021-16-47-54

5. Генетические маркеры устойчивости и антибиотикорезистентность бактерий

группы Streptococcus spp. И Staphylococcus spp., изолированных из различных биотопов объектов животноводства / Н. А. Безбородова, В. В. Кожуховская, О. В. Соколова [и др.] // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2022. – № 94. – С. 195-202. – DOI 10.21515/1999-1703-94-195-202

6. Capita R, Alonso-Calleja C. Antibiotic-resistant bacteria: a challenge for the food industry. Crit Rev Food Sci Nutr. 2013; 53 (1):11-48. DOI: 10.1080/10408398.2010.519837

7. Kasimanickam V, Kasimanickam M, Kasimanickam R. Antibiotics Use in Food Animal Production: Escalation of Antimicrobial Resistance: Where Are We Now in Combating AMR? Med Sci (Basel). 2021 Feb 21; 9(1):14. DOI: 10.3390/medsci 9010014

8. Альтернативные методы лечения мастита крупного рогатого скота: перспективы и ограничения (обзор) / В. Д. Зубарева, О. В. Соколова, М. В. Бытов [и др.] // Ветеринария сегодня. – 2024. – Т. 13, № 3. – С. 203-213. – DOI 10.29326/2304-196X-2024-13-3-203-213

9. Забровская, А. В. Предотвращение возникновения и распространения штаммов микроорганизмов, устойчивых к антимикробным препаратам / А. В. Забровская // Иппология и ветеринария. – 2018. – № 2 (28). – С. 64-70

10. Рациональная антибиотикотерапия воспалительных заболеваний репродуктивной системы и молочной железы коров в животноводческих предприятиях Свердловской области: Методические рекомендации / О. В. Соколова, И. А. Шкуратова, Н. А. Безбородова [и др.]; под редакцией О.В. Соколовой, И.А. Шкуратовой, Н.А. Безбородовой. – Екатеринбург: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», 2022. – 38 с.

11. Endale H, Mathewos M, Abdeta D. Potential Causes of Spread of Antimicrobial Resistance and Preventive Measures in One Health Perspective-A Review. Infect Drug Resist. 2023 Dec 8; 16:7515-7545. DOI: 10.2147/IDR.S428837

12. Антибиотикорезистентность условно-патогенных бактерий на животноводческих предприятиях в районах с различным уровнем техногенного загрязнения / А. С. Кривоногова, Е. А. Логинов, А. Г. Исаева [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2024. – № 2. – С. 13-17. – DOI 10.33861/2071-8020-2024-2-13-17

13. Исакова М. Н. Влияние композиции на основе бактериоцина низина в схеме лечения коров с субклиническим маститом на микробиоту молока / М. Н. Исакова, Я. Ю. Лысова // Ветеринария сегодня. – 2024. – Т. 13, № 3. – С. 261-268. – DOI 10.29326/2304-196X-2024-13-3-261-268

14. Антибиотикорезистентность Enterobacteriaceae в микробиомах цыплят-бройлеров / А. С. Кривоногова, И. М. Донник, А. Г. Исаева [и др.] // Техника и технология пищевых производств. – 2023. – Т. 53, № 4. – С. 710-717. – DOI 10.21603/2074-9414-2023-4-2472

15. Логинов Е. А. Влияние бактериофагов на антибиотикочувствительность стафилококков и кишечной палочки у цыплят-бройлеров / Е. А. Логинов, А. С. Кривоногова // Научные достижения генетики и биотехнологии в ветеринарной медицине и животноводстве: сборник материалов научно-практической конференции с международным участием, Екатеринбург, 27 апреля 2023 года. – Екатеринбург: Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр УрО РАН, 2023. – С. 112-118.

16. Mauri C, Cerulli C, Grazioli E, Minganti C, Tranchita E, Scotto di Palumbo A, Parisi A. Role of exercise on pain, functional capacity, and inflammatory biomarkers in osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis. Ann Phys Rehabil Med. 2025 Apr; 68(3):101909. DOI: 10.1016/j.rehab.2024.101909

17. Nowbuth, A.A., Asombang, A.W., Tazinkeng, N.N. et al. Antimicrobial resistance from a One Health perspective in Zambia: a systematic review. Antimicrob Resist Infect Control 12, 15 (2023). https://

doi.org/10.1186/s13756-023-01224-0
18. Madec J.-Y. Development of resistance in animals not administered antibiotics [Development of antibiotic resistance in animals not receiving antibiotic therapy]. C R Biol. 2024 Mar 29; 346(S1):9-12. In French. DOI: 10.5802/crbiol.116. PMID: 37655931
19. Киселева Е.В., Туников Г.М. Эффективность использования современных антимикробных препаратов для лечения мастита у коров // Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета им. П. А. Костычева, №4 (36), 2017, С. 40-44.
20. Seitz M, Valentin-Weigand P, Willenborg J. Use of Antibiotics and Antimicrobial Resistance in Veterinary Medicine as Exemplified by the Swine Pathogen Streptococcus suis. Curr Top Microbiol Immunol. 2016; 398:103-121. DOI: 10.1007/82_2016_506
21. Андреева А.А., Евграфова В.А., Воронина М.С., Прунтова О.В., Шадрова Н.Б. Этиология и эпизоотология мастита коров (аналитический обзор). Ветеринария сегодня. 2024;13(1):27-35. https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-27-35
22. National Mastitis Council. Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. 4th ed. Verona, WI: National Mastitis Council; 2021. 150 p.
23. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Part 1: Colony count at 30°C by the pour plate technique. Geneva: International Organization for Standardization; 2019. 12 p.
24. Oikonomou G., Bicalho M.L., Meira E., Rossi R.E., Foditsch C., Machado V.S., et al. Microbiota of cow's milk with subclinical mastitis. Front Vet Sci. 2020; 7:557. DOI: 10.3389/fvets.2020.00557
25. Quinn P.J., Markey B.K., Leonard F.C., FitzPatrick E.S., Fanning S., Hartigan P.J. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. 3rd ed. Hoboken: Wiley-Blackwell; 2019. 904 p. DOI: 10.1002/9781119362189
26. Ruegg P.L. A 100-year review: Mastitis detection, management, and prevention. J Dairy Sci. 2017; 100(12):10381-10397. DOI: 10.3168/jds.2017-13023.; ISO 4833-1:2019

REFERENCES

1. Pleshakova V.I., Leshcheva N.A., Koshkin I.N. Phenotypic and molecular-genetic methods for determining antibiotic resistance of microorganisms in veterinary medicine // Vestnik Krasnoyarskogo Gosudarstvennogo Agrarnogo Universiteta - No. 8 (197) - 2023, pp. 106-115. DOI:10.36718/1819-4036-2023-8-106-115 (In Russ.)
2. Milk quality indicators of high-yielding cows against the background of using an anti-mastitis vaccine / M. N. Isakova, U. V. Sivkova, M. V. Ryaposova [et al.] // Veterinaria segodnya. – 2020. – No. 4 (35). – pp. 255-260. – DOI 10.29326/2304-196X-2020-4-35-255-260 (In Russ.)
3. Pinto Jimenez CE, Keestra S, Tandon P, Cumming O, Pickering AJ, Moodley A, Chandler CIR. Biosecurity and water, sanitation, and hygiene (WASH) interventions in animal agricultural settings for reducing infection burden, antibiotic use, and antibiotic resistance: a One Health systematic review. Lancet Planet Health. 2023 May; 7(5): e418-e434. DOI: 10.1016/S2542-5196(23)00049-9
4. Antibiotic Resistance Challenges in the Modern World / L. V. Khoroshevskaia, A. P. Khoroshevskii, M. I. Slozhenkina, A. A. Mosolov // Agrarian and Food Innovations. – 2021. – No. 4 (16). – P. 47-54. – DOI 10.31208/2618-7353-2021-16-47-54 (In Russ.)
5. Genetic Markers of Resistance and Antibiotic Resistance of Streptococcus spp. and Staphylococcus spp. Bacteria Isolated from Various Biotopes of Livestock Objects / N. A. Bezborodova, V. V. Kozhukhovskaia, O. V. Sokolova [et al.] // Proceedings of the Kuban State Agrarian University. – 2022. – No. 94. – P. 195-202. – DOI 10.21515/1999-1703-94-195-202 (In Russ.)
6. Capita R, Alonso-Calleja C. Antibiotic-resistant bacteria: a challenge for the food industry. Crit Rev Food Sci Nutr. 2013; 53 (1):11-48. DOI: 10.1080/10408398.2010.519837
7. Kasimanickam V, Kasimanickam M,

Kasimanickam R. Antibiotics Use in Food Animal Production: Escalation of Antimicrobial Resistance: Where Are We Now in Combating AMR? Med Sci (Basel). 2021 Feb 21; 9(1):14. DOI: 10.3390/medsci 9010014
8. Zubareva, V. D., Sokolova, O. V., Bytov, M. V. [et al.] (2024). Alternative Treatment Methods for Bovine Mastitis: Prospects and Limitations (Review). Veterinary Today, 13 (3), 203-213. DOI: 10.29326/2304-196X-2024-13-3-203-213 (In Russ.)
9. Zabrovskaya, A. V. (2018). Prevention of the Emergence and Spread of Antimicrobial-Resistant Microorganism Strains. Hippology and Veterinary Medicine, 2(28), 64-70 (In Russ.)
10. Rational Antibiotic Therapy for Inflammatory Diseases of the Reproductive System and Mammary Gland of Cows on Livestock Farms in the Sverdlovsk Region: Methodological Recommendations / O. V. Sokolova, I. A. Shkuratova, N. A. Bezborodova [et al.]; edited by O. V. Sokolova, I. A. Shkuratova, N. A. Bezborodova. - Yekaterinburg: Federal State Budgetary Scientific Institution «Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences», 2022. - 38 p. (In Russ.)
11. Endale H, Mathewos M, Abdeta D. Potential Causes of Spread of Antimicrobial Resistance and Preventive Measures in One Health Perspective-A Review. Infect Drug Resist. 2023 Dec 8; 16:7515-7545. DOI: 10.2147/IDR.S428837
12. Krivonogova, A. S., Loginov, E. A., Isaeva, A. G. [et al.]. (2024). Antibiotic resistance of opportunistic pathogens in livestock farms in areas with different levels of technogenic pollution. Veterinaria Kubani, (2), 13-17. DOI 10.33861/2071-8020-2024-2-13-17 (In Russ.)
13. Isakova M. N., & Lysova, Ya. Yu. (2024). Influence of a nisin bacteriocin-based composition in the treatment regimen for cows with subclinical mastitis on milk microbiota. Veterinaria segodnya, 13(3), 261-268. DOI 10.29326/2304-196X-2024-13-3-261-268 (In Russ.)
14. Krivonogova, A. S., Donnik, I. M., Isaeva, A. G. [et al.]. Antibiotic resistance of Enterobacteriaceae in broiler chicken microbiomes. Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv (Food Industry Technology and Engineering), 2023, vol. 53, No. 4, pp. 710-717. DOI: 10.21603/2074-9414-2023-4-2472 (In Russ.)
15. Loginov E. A., Krivonogova, A. S. The effect of bacteriophages on the antibiotic sensitivity of staphylococci and Escherichia coli in broiler chickens. In: Nauchnye dostizheniya genetiki i biotekhnologii v veterinarnoy meditsine i zhivotnovodstve: sbornik materialov nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem (Scientific Achievements in Genetics and Biotechnology in Veterinary Medicine and Animal Husbandry: Proceedings of the Scientific and Practical Conference with International Participation), Yekaterinburg, April 27, 2023. Yekaterinburg: Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 2023. pp. 112-118 (In Russ.)
16. Mauri C, Cerulli C, Grazioli E, Minganti C, Tranchita E, Scotto di Palumbo A, Parisi A. Role of exercise on pain, functional capacity, and inflammatory biomarkers in osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis. Ann Phys Rehabil Med. 2025 Apr; 68(3):101909. DOI: 10.1016/j.rehab.2024.101909
17. Nowbuth, A.A., Asombang, A.W., Tazinkeng, N.N. et al. Antimicrobial resistance from a One Health perspective in Zambia: a systematic review. Antimicrob Resist Infect Control 12, 15 (2023). https://doi.org/10.1186/s13756-023-01224-0
18. Madec J.-Y. Development of resistance in animals not administered antibiotics [Development of antibiotic resistance in animals not receiving antibiotic therapy]. C R Biol. 2024 Mar 29; 346(S1):9-12. In French. DOI: 10.5802/crbiol.116. PMID: 37655931
19. Kiseleva E.V., Tunikov G.M. Effectiveness of using modern antimicrobial drugs for treating mastitis in cows // Bulletin of the Ryazan State Agrotechnological University named after P. A. Kostychev, No. 4 (36), 2017, pp. 40-44.
20. Seitz M, Valentin-Weigand P, Willenborg J. Use of Antibiotics and Antimicrobial

Resistance in Veterinary Medicine as Exemplified by the Swine Pathogen Streptococcus suis. Curr Top Microbiol Immunol. 2016; 398:103-121. DOI: 10.1007/82_2016_506 (In Russ.)
21. Andreeva A.A., Evgrafova V.A., Voronina M.S., Pruntova O.V., Shadrova N.B. Etiology and epizootology of bovine mastitis (analytical review). Veterinariya segodnya (Veterinary Medicine Today). 2024; 13 (1):27-35. https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-27-35 (In Russ.)
22. National Mastitis Council. Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. 4th ed. Verona, WI: National Mastitis Council; 2021. 150 p.
23. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Part 1: Colony count at 30°C by the pour plate technique. Geneva: International Organization for Standardization; 2019. 12 p.
24. Oikonomou G., Bicalho M.L., Meira E., Rossi R.E., Foditsch C., Machado V.S., et al. Microbiota of cow's milk with subclinical mastitis. Front Vet Sci. 2020; 7:557. DOI: 10.3389/fvets.2020.00557
25. Quinn P.J., Markey B.K., Leonard F.C., FitzPatrick E.S., Fanning S., Hartigan P.J. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. 3rd ed. Hoboken: Wiley-Blackwell; 2019. 904 p. DOI: 10.1002/9781119362189
26. Ruegg P.L. A 100-year review: Mastitis detection, management, and prevention. J Dairy Sci. 2017; 100(12):10381-10397. DOI: 10.3168/jds.2017-13023.; ISO 4833-1:2019

УДК: 57.044
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.184

ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ 7,8-ДИГИДРОКСИ-4-МЕТИЛКУМАРИНА И ВАНИЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Курилкина М.Я. – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. Испытательного центра; **Лазебник К.С. *** – мл. науч. сотр. лаборатории молекулярно-генетических исследований в животноводстве; **Климова Т.А.** – канд. биол. наук, науч. сотр. лаборатории молекулярно-генетических исследований в животноводстве; **Дускаев Г.К.** – д-р биол. наук, глав. науч. сотр. отдела кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. С.Г. Леушина

ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН

*christinakondrashova94@yandex.ru

Ключевые слова: бактериальная люминесценция, токсичность, 7,8-дигидрокси -4-метилкумарин, ванилиновая кислота, *Escherichia coli*, *Stylonychia mytilus.*

Key words: *bacterial luminescence, toxicity, 7,8-dihydroxy-4-methylcoumarin, vanillic acid, Escherichia coli, Stylonychia mytilus.*

Финансирование: *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-26-00251, https://rscf.ru/project/25-26-00251/*

Поступила: 10.07.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Кормовые добавки на основе фитобиотиков являются перспективными в кормлении сельскохозяйственных животных, обеспечивая улучшение здоровья и продуктивности. Данные соединения обладают разнообразными эффектами, включая антиоксидантный, противовоспалительный, антибактериальный и анти-QS. Таким образом, фитобиотики могут представлять потенциальный инструмент для лечения и профилактики инфекционных заболеваний сельскохозяйственных животных. Однако значимым побочным эффектом у некоторых из них является гепатотоксичность, поэтому для безопасного использования данных соединений в качестве кормовых добавок необходимы более детальные исследования, включая дозу, биодоступность, метаболические взаимодействия и риски, связанные с длительным воздействием. Целью данного исследования стала оценка токсичности кормовых добавок на основе фитобиотиков 7,8-дигидрокси-4-метилкумарина и ванилиновой кислоты с использованием рекомбинантного люминесцирующего штамма *Escherichia coli* K12 MG1655 *pXen7* и представителя реснитчатых простейших *Stylonychia mytilus,* являющегося стандартным тест-объектом для определения общей токсичности кормов. Оценка токсичности изучаемых соединений с использованием двух тест-объектов показала различия в их активности. В ходе исследований была зафиксирована абсолютная токсичность ванилиновой кислоты. Для бактериального биосенсора наблюдалось полное подавление свечения при максимальных концентрациях (0,0125 и 0,125 М), а для стилонихий – мгновенный лизис клеток во всем диапазоне концентраций уже через 1 ч экспозиции. На этом фоне меньший токсический эффект был характерен для 7,8-дигидрокси-4 -метилкумарина, у которого токсический эффект проявлялся при высоких дозах и исче-

зал с уменьшением концентрации тестируемого соединения. Однако для *Stylonychia mytilus* через 3 ч экспозиции было зафиксировано токсическое действие во всех оставшихся экспериментальных точках. Результаты исследования указывают на необходимость строгого контроля использования фитобиотиков в кормлении сельскохозяйственных животных и подчеркивают важность более глубокого изучения данных кормовых добавок.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Кормовые добавки играют ключевую роль в современном рационе сельскохозяйственных животных, обеспечивая улучшение здоровья и продуктивности. Данные добавки включают в себя широкий спектр различных соединений. Согласно многочисленным научным исследованиям, высокую перспективу среди них имеют биологически активные вещества растительного происхождения – фитобиотики, а также их аналоги, синтезированные искусственным путем [1, 2]. Такие добавки имеют ряд преимуществ, включая натуральность, высокую усвояемость и недорогую стоимость [3].

Биоактивный потенциал фитобиотиков связан с содержанием в них таких веществ, как терпеноиды, фенольные соединения и азотсодержащие вещества [4]. Одной из наиболее разнообразных групп являются фенольные соединения, обладающие значительными структурными вариациями [5]. Среди них можно выделить кумарины, которые широко распространенные в растительном мире, чаще встречаются в высших растениях, редко в грибах и лишайниках. Они наиболее типичны для семейств Зонтичных (*Apiaceae*), Рутовых (*Rutaceae*), Бобовых (*Fabaceae*), Конскокаштановых (*Hippocastanaceae*). Кумарины накапливаются в различных органах растений, чаще всего в корнях, коре, плодах. В настоящее время из растительных объектов выделено порядка 200 таких соединений [6, 7]. Другим представителем является ароматическая фенольная кислота – ванилиновая кислота, встречающаяся в различных травах, таких как Дудник китайский (*Angelica sinensis*), Базилик душистый (*Ocimum basilicum*), Душица обыкновенная (*Origanum vulgare*), Шалфей розмариновый (*Salvia rosmarinus*) и Тимьян обыкновенный (*Thymus vulgaris*), а также в злаках, некоторых овощах и фруктах [8, 9].

Данные соединения обладают разнообразными эффектами, включая антиоксидантный, противовоспалительный, антибактериальный и анти-QS, что позволяет рассматривать их в качестве потенциального инструмента для лечения и профилактики инфекционных заболеваний сельскохозяйственных животных [9-13]. Также известны положительные эффекты данных соединений при их добавлении в рацион сельскохозяйственной птицы. Наблюдается увеличение массы тела, положительное влияние на липидный обмен, увеличение биологической ценности мышечной ткани, а именно увеличение ряда незаменимых аминокислот, ненасыщенных жирных кислот и важных макро- и микроэлементов [14-16]. Однако значимым побочным эффектом у некоторых из них является гепатотоксичность, поэтому для безопасного использования данных соединений в качестве кормовых добавок необходимы более детальные исследования, включая дозу, биодоступность, метаболические взаимодействия и риски, связанные с длительным воздействием [17, 18].

Принимая во внимание вышеизложенное, целью данного исследования стала оценка токсичности 7,8-дигидрокси -4-метилкумарина и ванилиновой кислоты с использованием рекомбинантного люминесцирующего штамма *Escherichia coli* K12 MG1655 *pXen7* и представителя реснитчатых простейших *Stylonychia mytilus.*

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Фитобиотики. Объектами изучения в данном исследовании являлись 7,8-дигидрокси-4-метилкумарин и ванилиновая кислота («Merc», США).

Бактериальные штаммы и проти-

сты. Для оценки токсического действия тестируемых соединений был использован рекомбинантный люминесцирующий биосенсор *Escherichia coli* K12 MG1655, полученный путем трансформации с помощью плазмиды *pXen7*, содержащей кассету люминесцентных генов почвенного микроорганизма *Photorhabdus luminescens* ZM1 [19]. Еще одним тест-организмом для изучения токсичности стал представитель реснитчатых простейших *Stylonychia mytilus,* являющийся стандартным тест-объектом для определения общей токсичности кормов [20]. Эксперимент проводился на базе Центра коллективного пользования ФНЦ БСТ РАН (https://ckp-rf.ru/ckp/77384/) (Оренбург, Россия).

Биолюминесцентный тест. Биосенсор *E. coli* K12 MG1655 *pXen7* культивировали в течение суток на LB-агаре (Диаэм, Россия) при 37 °С, при этом в среду добавляли селективный маркер ампициллин (100 мкг/мл). Далее клетки суспендировали в растворе NaCl (0,9 %) и доводили до оптической плотности 0,5 отн. ед. при 450 нм, данные измерения проводили в пластиковых прозрачных лунках с помощью микропланшетного фотометра AMR-100 (Allsheng, КНР). После этого бактериальную суспензию объемом 500 мкл вносили в 1000 мкл LB-бульона без дополнительного подращивания. Аликвоты бактериальных суспензий по 100 мкл вносили в лунки белых непрозрачных планшетов, содержащих предварительно внесенные тестируемые вещества в конечной концентрации от 0,125 М до $0{,}125\times10^{-10}$ М. Далее планшет помещали в измерительный блок люминометра «Infinite 200 Pro» («Tecan», Австрия). Измерение проводили в кинетическом режиме в течение 60 минут при 37°С. Полученные результаты первично обрабатывали с использованием программного обеспечения планшетного люминометра Magellan™, дальнейшую обработку полученных данных осуществляли с помощью компьютерной программы «Excel 2010» (Microsoft Inc.). Первичные значения свечения нормализовали по контролю. Нормализация позволила «избавиться» от характера кривой в контрольной пробе и оценить непосредственно эффект анализируемого вещества. Расчет проводили по формуле:

$$I_{норм} = \frac{I_n^{опыт} \times I_0^{контроль}}{I_0^{опыт} \times I_n^{контроль}}$$

где I_0 и I_n – интенсивность люминесценции в начале эксперимента и измеренная в заданное время (n).

Тест на простейших. Для анализа использовали суточную культуру стилонихий, которая находилась в фазе экспоненциального роста [20].—Эксперимент проводили в диапазоне концентраций от 0,009 до 10 мг/мл. Пересадку и подсчет стилонихий проводили с использованием микроскопа биологического Микромед 2 (2-20 inf). Далее автоматической пипеткой отбирали по 20 мкл среды со стилонихиями и помещали в каждую из пяти лунок предметных стекол. Затем туда же автоматической пипеткой вносили по 20 мкл водного раствора исследуемых веществ, подготовленных для биотестирования. Через 2 мин в каждой лунке подсчитывали количество стилонихий. После подсчета в каждую лунку вносили по 200 мкл водного раствора исследуемых веществ и отмечали время начала испытаний. Токсичность исследуемых веществ определяли по выживаемости стилонихий через 1 и 3 ч экспозиции. Если исследуемые вещества токсичны, то стилонихии изменяют свою обычную эллипсоидную форму на округлую, прекращают движение, или подвергаются распаду – лизису.

Выживаемость стилонихий N, %, вычисляли по формуле:

$$N = \frac{N_2}{N_1} \times 100$$

где N_2 – среднеарифметическое (из пяти испытаний) значение количества стилонихий в конце опыта (через 1 и 3 ч экспозиции), шт.; N_1 – среднеарифметическое (из пяти испытаний) значение количества стилонихий в начале опыта, шт.; 100 – коэффициент перевода результата в проценты.

Токсичность исследуемых веществ

определяли из расчета: от 70 % до 100 % выживаемости стилонихий – образец нетоксичный; от 40 % до 69 % выживаемости стилонихий – образец слаботоксичный; от 0 % до 39 % выживаемости стилонихий – образец токсичный.

Все эксперименты выполнены не менее чем в пяти повторностях. Полученные результаты обработаны методами вариационной статистики в программе Excel для Windows 10.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Оценка токсичности изучаемых соединений с использованием двух тест-объектов показала различия в их активности. Наиболее интенсивное ингибирование люминесценции было отмечено в присутствии ванилиновой кислоты. Полное подавление свечения наблюдалось в диапазоне максимальных концентраций от 0,0125 до 0,125 М. С увеличением разведения тестируемого вещества до 0,006 М было отмечено уменьшение уровня токсического действия до 50 %. При дальнейшем разведении исследуемого фитобиотика количество выживших клеток увеличивалось и достигало 71 %.

Другое соединение – 7,8-дигидрокси-4-метилкумарин – показал меньшую токсическую активность, снижая уровень люминесценции на 24 % только при максимальной концентрации 0,125 М. Дальнейшее разведение до $0{,}125\times10^{-10}$ М не вызывало ингибирование свечения, таким образом, уровень биолюминесценции соответствовал контрольному.

Тестирование исследуемых веществ на *S. mytilus* показало, что наибольшим токсическим эффектом, как и в случае со штаммом *E. coli* K12 MG1655 *pXen7*, обладала ванилиновая кислота, токсическое действие которой проявлялось мгновенным лизисом клеток стилонихий во всем диапазоне концентраций уже через 1 ч экспозиции (таблица 1).

Таблица 1 – Биотестирование исследуемых веществ на *S. mytilus*

Концентрация мг/мл	Время экспозиции, ч			
	1	3	1	3
	7,8-дигидрокси-4-метилкумарин		Ванилиновая кислота	
10,0	Tox	Tox	Tox	Tox
5,0	Tox	Tox	Tox	Tox
2,5	Tox	Tox	Tox	Tox
1,25	LOEC	Tox	Tox	Tox
0,625	LOEC	Tox	Tox	Tox
0,313	LOEC	Tox	Tox	Tox
0,156	NOEC	Tox	Tox	Tox
0,078	NOEC	Tox	Tox	Tox
0,039	NOEC	Tox	Tox	Tox
0,019	NOEC	Tox	Tox	Tox
0,009	NOEC	Tox	Tox	Tox

Примечание: Tox – 0-39 % выживаемость тест-объекта; LOEC – 40-69 % выживаемость тест-объекта; NOEC – 70-100 % выживаемость тест-объекта [21].

Схожие результаты были описаны для кумарина и ванилина [22], которые оказывали токсическое действие, снижая уровень люминесценции бактериального биосенсора *E. coli* K12 MG1655 *pXen7* на 50 % при 2,70 мМ и 2,40 мМ соответственно, а также снижая выживаемость *Stylonychia mytilus,* так при 1,56 мМ выживаемость простейших составляла 40-69 %, дальнейшее увеличение концентраций приводило к еще большему снижению выживаемости, которое проявилось в прекращении движения стилонихий.

Токсическое действие исследуемых молекул возможно связано с наличие ОН-группы в их структуре [5]. Известно, что

данные группы могут взаимодействовать с мембраной клетки, разрушая ее и приводя к утечке клеточных компонентов, а также с активным центром ферментов, изменяя клеточный метаболизм микроорганизмов [23, 24]. Помимо этого, гидроксильные группы способны делокализировать электроны, приводя к разрушению протонной движущей силы, что в конечном итоге приводит к гибели клетки [25]. Также возможно, что лизис клеток стилонихий связан с игольчатой структурой кристаллов кумарина и ванилиновой кислоты [26].

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Анализ воздействия исследуемых фитобиотиков в отношении используемых тест-объектов выявил высокую токсичность ванилиновой кислоты и на этом фоне меньший токсический эффект 7,8-дигидрокси-4-метилкумарина. Результаты исследования указывают на необходимость строгого контроля использования фитобиотиков в кормлении сельскохозяйственных животных и подчеркивают важность более глубокого изучения данных кормовых добавок на многоклеточных организмах, поскольку данные, полученные на одноклеточных тест-объектах, не гарантируют безопасность их применения в животноводстве.

TOXICITY ASSESSMENT OF 7,8-DIHYDROXY-4-METHYLCOUMARIN AND VANILLIC ACID

Kurilkina M.Ya. – Candidate of Biological Sciences, Senior researcher; **Lazebnik K.S.*** – Junior researcher; **Klimova T.A.** – Candidate of Biological Sciences, Researcher; **Duskaev G.K.** – Doctor of Biological Sciences, Chief researcher

Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences

*christinakondrashova94@yandex.ru

Financing: The research was carried out within the framework of the Russian Science Foundation grant number 25-26-00251,https://rscf.ru/project/25-26-00251/

ABSTRACT

Phytobiotic feed additives have promising potential in the feeding of farm animals, providing improved health and productivity. These compounds have a variety of effects, including antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial, and anti-QS. Thus, phytobiotics may represent a potential tool for the treatment and prevention of infectious diseases of farm animals. However, hepatotoxicity is a significant side effect of some of them, so more detailed studies are needed to safely use these compounds as feed additives, including dose, bioavailability, metabolic interactions, and risks associated with long-term exposure. The purpose of this research was to evaluate the toxicity of two phytobiotic compounds, 7,8-dihydroxy-4-methylcoumarin and vanillic acid, using a recombinant luminescent strain of *Escherichia coli* K12 MG1655 *pXen7* and a representative ciliated protozoon, *Stylonychia mytilus*. These two test organisms are commonly used to assess the overall toxicity of feeds. The results of the study showed differences in the toxicity levels of the two compounds when tested using both organisms. Vanillic acid exhibited higher toxicity than 7,8-dihydroxy-4-methylcoumarin. For the bacterial biosensor, complete suppression of luminescence was observed at maximum concentrations (0,0125 and 0,125 M). For *Stylonychia*, instant cell lysis was observed across the entire concentration range after one hour of exposure. In contrast, 7,8-dihydroxy-4-methylcoumarin showed a lower toxic effect, with the toxic effect only manifesting itself at high doses and disappearing with a decrease in concentration. However, after three hours of exposure for *Stylonychia mytilus*, a toxic effect was still recorded at all remaining experimental sites. These results emphasize the need for careful monitoring of phytobiotic use in animal feed and highlight the importance of further research on these feed additives.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Рязанов В.А. Фитобиотики как альтернатива антибиотикам в животноводстве / В.А. Рязанов, М.Я. Курилкина, Г.К. Дус-

каев, В.М. Габидулин // Животноводство и кормопроизводство. – 2021. – Т. 104. – № 4. – С. 108-123. doi: 10.33284/2658-3135-104-4-108.
2. Djuragic O. Feed Additives, Their Role, and Technological Properties / O. Djuragic, I. Čabarkapa, M.M. Šeremešić, S.Rakita, Z. Tomičić // Sustainable Use of Feed Additives in Livestock. Springer, Cham. – 2023. doi: 10.1007/978-3-031-42855-5_2.
3. Пронина В.И. Потенциал растений-фитобиотиков для развития отечественного животноводства и птицеводства (обзор) / В.И. Пронина, И.А. Сазонова, А.В. Ерохина, С.Н. Чемоданкин // АгроЭкоИнфо. – 2023. – № 1. – doi: 10.51419/202131109.
4. Li Y. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants / Y. Li, D. Kong, Y. Fu, M.R. Sussman, H. Wu // Plant Physiol Biochem. – 2020. – V. 148. – pp. 80–89. doi: 10.1016/j.plaphy.2020.01.006.
5. Gyawali R. Natural products as antimicrobial agents / R. Gyawali, S.A. Ibrahim // Food Control. – 2014. – V. 46. – pp. 412–429. doi: 10.1016/j.foodcont.2014.05.047.
6. Головкин Б. Биологически активные вещества растительного происхождения / Б. Головкин, Р. Руденская, И. Трофимова, А. Шретер // Российская Академия наук. –М.: Наука, 2001. – С. 337.
7. Matos M.J. Coumarins-An Important Class of Phytochemicals / M.J. Matos, L. Santana, E. Uriarte, O.A. Abreu, E. Molina, E.G. Yordi // Phytochemicals-Isolation, Characterization and Role in Human Health. – 2015. doi: 10.5772/59982.
8. Kaur J. Discovering multifaceted role of vanillic acid beyond flavours: nutraceutical and therapeutic potential / J. Kaur, M. Gulati, S.K. Singh, et al. // Trends Food Scien. Technol. – 2022. – –V. 122. – pp. 187-200. doi: 10.1016/j.tifs.2022.02.023.
9. Matejczyk M. Biological effects of vanillic acid, iso-vanillic acid, and orto-vanillic acid as environmental pollutants / M. Matejczyk, P. Ofman, E. Juszczuk-Kubiak, R. Świsłocka, W.L. Shing, K.K. Kesari, B. Prakash, W. Lewandowski // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2024. – V. 227. – p. 116383. doi: 10.1016/j.ecoenv.2024.116383.
10. Reen F.J. Coumarin: a novel player in microbial quorum sensing and biofilm formation inhibition / F.J. Reen, J.A. Gutiérrez-Barranquero, M.L. Parages, F. O´Gara // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2018. – V. 102. – №. 5. – pp. 2063-2073. doi: 10.1007/s00253-018-8787-x.
11. Todorov L. Antioxidant Activity of Coumarins and Their Metal Complexes / L. Todorov, L. Saso, I. Kostova // Pharmaceuticals. – 2023. – V. 16. – no. 5. – p. 651. doi: 10.3390/ph16050651.
12. Deryabin D. Coumarin's anti-quorum sensing activity can be enhanced when combined with other plant-derived small molecules / D. Deryabin, K. Inchagova, E. Rusakova, G. Duskaev // Molecules. - 2021 - V. 26 - No 1 - p. 208 doi: 10.3390/molecules26010208.
13. Tanaka T. Anti-osteoporotic effects of syringic acid and vanillic acid in the extracts of waste beds after mushroom cultivation / T. Tanaka, H. Onuma, T. Shigihara, E. Kimura, Y. Fukuta // J. Biosci. Bioeng. – 2019. – V. 128. – pp. 622-629. doi: 10.1016/j.jbiosc.2019.04.021.
14. Дускаев Г.К. Продуктивность птицы, биохимические значения крови: эффект Bacillus cereus и кумарин / Г К. Дускаев, Ш.Г. Рахматуллин, О.В. Кван // Животноводство и кормопроизводство. – 2020. – Т. 103. – № 4. – С. 197-209. doi: 10.33284/2658-3135-103-4-197.
15. Duskaev G. Growth-stimulating and antioxidant effects of vanillic acid on healthy broiler chickens / G. Duskaev, M. Kurilkina, O. Zavyalov // Veterinary World. – 2023. – V. 16. – pp. 518-525. doi: 10.14202/vetworld.2023.518-525.
16. Дускаев Г.К. Влияние фитовеществ на биохимический состав мышечной ткани цыплят-бройлеров / Г.К. Дускаев, М.Я. Курилкина // Аграрный вестник Урала. Специальный выпуск «Биология и биотехнологии» – 2022. – С. 9–20. doi: 10.32417/1997-4868-2022-229-14-9-20.
17. Heghes S.C. Safety Profile of Nutraceuticals Rich in Coumarins: An Update / S.C. Heghes, O. Vostinaru, C. Mogosan, D. Mie-

re, C.A. Iuga, L. Filip // Front Pharmacol – 2022. – V. 13. – p. 803338. doi: 10.3389/fphar.2022.803338.
18.Karthikeyan M. Safety, Dosage, and Regulatory Aspects in the Use of Phytochemicals. M. Karthikeyan, A. Mehta, S.S. Kumar, H. Mohan, B. Usha Medicinal Plants and Their Bioactives in Human Diseases. Springer, Cham. – 2025. doi: 10.1007/978-3-032-01356-9_10.
19.Manukhov I.V. Cloning and expression of the lux-operon Photorhabdus luminescens zm1 strain: the nucleotide sequence of luxAB genes and the main characteristics of luciferase / I.V.Manukhov, S.M. Rastorguev, G.E. Eroshnikov, A.P. Zarubina, G.B. Zavilgelsky // Genetics. – 2000. – Vol. 36. – No. 3. – pp. 322–330.
20.ГОСТ 31674-2012. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения общей токсичности / Стандартинформ, 2014.
21.Jackson P. Bioaccumulation Ecotoxicity and nanotubes chemistry / P. Jackson, N.R. Jacobsen, A. Baun, R. Deev, D. Kühnel, K.A. Jensen, U. Vogel, H. Wallin // Central AUD carbon. – 2013. – V. 7. – No. 1. – p. 154. doi: 10.1186/1752-153X-7-154.
22.Vlasenko L. Assessment (in vitro) toxicity of small molecules of plant origin / L. Vlasenko, K. Atlanderova // E3S Web of Conf. – 2023. – p. 07022. doi: e3sconf/202339007022.
23.Xue J. Thymol nanoemulsified by whey protein maltodextrin conjugates: The enhanced emulsifying capacity and antilisterial properties in milk by propylene glycol / J. Xue, P.M. Davidson, Q. Zhong // Journal of agricultural and food chemistry. – 2013. – V. 61. – pp. 12720−12726. doi: 10.1021/jf4043437.
24.Farag R. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils / R. Farag, Z. Daw, F. Hewedi, G. El-Baroty // Journal of Food Protection. – 1989. – V. 52. – pp. 665-667. doi: 10.4315/0362-028X-52.9.665.
25.Ultee A. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the foodborne pathogen Bacillus cereus / A. Ultee, M.H.J. Bennik, R. Moezelaar // Applied and environmental microbiology. – 2002. – V. 68. – No. 4. – pp. 1561-1568. doi: 10.1128/AEM.68.4.1561-1568.2002.
26.Kondrashova K. Impact of developed ruminant feed products on the surrounding ecosystem / K. Kondrashova, K. Inchagova, V. Ryazanov, G. Duskaev // BIO Web of Conferences. – 2022. – V. 52. – p. 00034. – doi: 10.1051/bioconf/20225200034.

REFERENCES

1.Ryazanov V.A. Phytobiotics as an alternative to antibiotics in animal husbandry / V.A. Ryazanov, M.Ya. Kurilkina, G.K. Duskaev, V.M. Gabidulin // Animal husbandry and Fodder production. – 2021. – Vol. 104. – No. 4. – pp. 108-123. doi: 10.33284/2658-3135-104-4-108.
2.Djuragic O. Feed Additives, Their Role, and Technological Properties / I. Čabarkapa, M.M. Šeremešić, S.Rakita, Z. Tomičić // In: G. Arsenos, I. Giannenas, (eds). Sustainable Use of Feed Additives in Livestock. Springer, Cham. 2023. doi: 10.1007/978-3-031-42855-5_2.
3.Pronina V.I. The potential of phytobiotic plants for the development of domestic livestock and poultry farming (review) / V.I. Pronina, I.A. Sazonova, A.V. Erokhina, S.N. Chemodankin // AgroEcoInfo. – 2023. – No. 1. – doi: 10.51419/202131109.
4.Li Y. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants / Y. Li, D. Kong, Y. Fu, M.R. Sussman, H. Wu // Plant Physiol Biochem. – 2020. – V. 148. – pp. 80–89. doi: 10.1016/j.plaphy.2020.01.006.
5.Gyawali R. Natural products as antimicrobial agents / R. Gyawali, S.A. Ibrahim // Food Control. – 2014. – V. 46. – pp. 412–429. doi: 10.1016/j.foodcont.2014.05.047.
6.Golovkin B. Biologically active substances of plant origin / B. Golovkin, R. Rudenskaya, I. Trofimova, A. Schroeter // Russian Academy of Sciences. – M.: Nauka, 2001. – p. 337.
7.Matos M.J. Coumarins-An Important Class of Phytochemicals / M.J. Matos, L. Santana, E. Uriarte, O.A. Abreu, E. Molina, E.G. Yordi // Phytochemicals-Isolation, Characterization and Role in Human Health. – 2015. doi: 10.5772/59982.

8.Kaur J. Discovering multifaceted role of vanillic acid beyond flavours: nutraceutical and therapeutic potential / J. Kaur, M. Gulati, S.K. Singh, et al. // Trends Food Scien. Technol. – 2022. – –V. 122. – pp. 187-200. doi: 10.1016/j.tifs.2022.02.023.
9.Matejczyk M. Biological effects of vanillic acid, iso-vanillic acid, and orto-vanillic acid as environmental pollutants / M. Matejczyk, P. Ofman, E. Juszczuk-Kubiak, R. Świsłocka, W.L. Shing, K.K. Kesari, B. Prakash, W. Lewandowski // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2024. – V. 227. – p. 116383. doi: 10.1016/j.ecoenv.2024.116383.
10.Reen F.J. Coumarin: a novel player in microbial quorum sensing and biofilm formation inhibition / F.J. Reen, J.A. Gutiérrez-Barranquero, M.L. Parages, F. O´Gara // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2018. – V. 102. – №. 5. – pp. 2063-2073. doi: 10.1007/s00253-018-8787-x.
11.Todorov L. Antioxidant Activity of Coumarins and Their Metal Complexes / L. Todorov, L. Saso, I. Kostova // Pharmaceuticals. – 2023. – V. 16. – no. 5. – p. 651. doi: 10.3390/ph16050651.
12.Deryabin D. Coumarin's anti-quorum sensing activity can be enhanced when combined with other plant-derived small molecules / D. Deryabin, K. Inchagova, E. Rusakova, G. Duskaev // Molecules. - 2021 - V. 26 - No 1 - p. 208 doi: 10.3390/molecules26010208.
13.Tanaka T. Anti-osteoporotic effects of syringic acid and vanillic acid in the extracts of waste beds after mushroom cultivation / T. Tanaka, H. Onuma, T. Shigihara, E. Kimura, Y. Fukuta // J. Biosci. Bioeng. – 2019. – V. 128. – pp. 622-629. doi: 10.1016/j.jbiosc.2019.04.021.
14.Duskaev G.K. Poultry productivity, biochemical values of blood: the effect of Bacillus cereus and coumarin / G. K. Duskaev, Sh.G. Rakhmatullin, O.V. Kvan // Animal husbandry and feed production. – 2020. – Vol. 103. – No. 4. – pp. 197-209. doi: 10.33284/2658-3135-103-4-197.
15.Duskaev G. Growth-stimulating and antioxidant effects of vanillic acid on healthy broiler chickens / G. Duskaev, M. Kurilkina, O. Zavyalov // Veterinary World. – 2023. – V. 16. – pp. 518-525. doi: 10.14202/vetworld.2023.518-525.
16. Duskaev G.K. Influence of phytomaterials on the biochemical composition of muscle tissue of broiler chickens / G.K. Duskaev, M.Ya. Kurilkina // Agrarian Bulletin of the Urals. Special issue "Biology and Biotechnology" – 2022. – Pp. 9-20. doi: 10.32417/1997-4868-2022-229-14-9-20.
17.Heghes S.C. Safety Profile of Nutraceuticals Rich in Coumarins: An Update / S.C. Heghes, O. Vostinaru, C. Mogosan, D. Miere, C.A. Iuga, L. Filip // Front Pharmacol – 2022. – V. 13. – p. 803338. doi: 10.3389/fphar.2022.803338.
18.Karthikeyan M. Safety, Dosage, and Regulatory Aspects in the Use of Phytochemicals. M. Karthikeyan, A. Mehta, S.S. Kumar, H. Mohan, B. Usha Medicinal Plants and Their Bioactives in Human Diseases. Springer, Cham. – 2025. doi: 10.1007/978-3-032-01356-9_10.
19.Manukhov I.V. Cloning and expression of the lux-operon Photorhabdus luminescens zm1 strain: the nucleotide sequence of luxAB genes and the main characteristics of luciferase / I.V.Manukhov, S.M. Rastorguev, G.E. Eroshnikov, A.P. Zarubina, G.B. Zavilgelsky // Genetics. – 2000. – Vol. 36. – No. 3. – pp. 322–330.
20. GOST 31674-2012. Feed, mixed feed, feed raw materials. Methods for determining total toxicity / Standartinform, 2014.
21.Jackson P. Bioaccumulation Ecotoxicity and nanotubes chemistry / P. Jackson, N.R. Jacobsen, A. Baun, R. Deev, D. Kühnel, K.A. Jensen, U. Vogel, H. Wallin // Central AUD carbon. – 2013. – V. 7. – No. 1. – p. 154. doi: 10.1186/1752-153X-7-154.
22.Vlasenko L. Assessment (in vitro) toxicity of small molecules of plant origin / L. Vlasenko, K. Atlanderova // E3S Web of Conf. – 2023. – p. 07022. doi: e3sconf/202339007022.
23.Xue J. Thymol nanoemulsified by whey protein maltodextrin conjugates: The enhanced emulsifying capacity and antilisterial properties in milk by propylene glycol / J. Xue, P.M. Davidson, Q. Zhong // Journal of agricultural and food chemistry. – 2013. – V. 61. – pp. 12720−12726. doi:

10.1021/jf4043437.
24.Farag R. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils / R. Farag, Z. Daw, F. Hewedi, G. El-Baroty // Journal of Food Protection. – 1989. – V. 52. – pp. 665-667. doi: 10.4315/0362-028X-52.9.665.
25.Ultee A. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the foodborne pathogen Bacillus cereus / A. Ultee, M.H.J. Bennik, R. Moezelaar // Applied and environmental microbiology. – 2002. – V. 68. – No. 4. – pp. 1561-1568. doi: 10.1128/AEM.68.4.1561-1568.2002.
26.Kondrashova K. Impact of developed ruminant feed products on the surrounding ecosystem / K. Kondrashova, K. Inchagova, V. Ryazanov, G. Duskaev // BIO Web of Conferences. – 2022. – V. 52. – p. 00034. – doi: 10.1051/bioconf/20225200034.

УДК: 612.616:612.617:616-092.9:57.044
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.193

ПУСКОВЫЕ МЕХАНИЗМЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ОРГАНАХ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ У КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ ДЕЛЬТАМЕТРИНА

Чигринский Е.А.[1]* – д-р биол. наук, доц. каф. биохимии, доцент (ORCID 0000-0002-0844-4090); **Герунова Л.К.**[2] – д-р ветеринар. наук, проф. каф. диагностики, внутренних незаразных болезней, фармакологии, хирургии и акушерства, профессор (ORCID 0000-0003-0835-9352); **Герунов Т.В.**[2] – д-р биол. наук, зам. директора по учебно -научной работе, доц. (ORCID: 0000-0002-5594-2666); **Диц Л.А.**[3] – врач-эндокринолог

[1] ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет»
[2] ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина»
[3] БУЗОО Областная клиническая больница

* dr.chigrinski@mail.ru

Ключевые слова: репродуктивная система, энергетический обмен, окислительный стресс, дельтаметрин, крысы.
Key words: reproductive system, energy exchange, oxidative stress, deltamethrin, rats.

Поступила: 11.07.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Дельтаметрин широко применяется в сельском хозяйстве и ветеринарии. В последние годы в научной литературе стали появляться данные о влиянии дельтаметрина и других синтетических пиретроидов на репродуктивную систему и, в частности, на качество семенной жидкости. При этом механизмы развития этих нарушений глубоко не раскрыты. Цель данной работы - определить пусковые механизмы окислительного стресса в органах репродуктивной системы у крыс при воздействии на организм дельтаметрина. Исследование проведено на 48 лабораторных крысах-самцах с массой тела 230-250 г. Метаболические изменения в семенниках после однократного введения дельтаметрина в дозе 17,4 мг/кг массы тела (1/5 $ЛД_{50}$) оценивали через 1 и 3 суток. Критериями оценки служили содержание в органах репродуктивной системы пировиноградной, молочной и мочевой кислот, неорганического фосфата (Фн), глутатиона, малонового диальдегида (МДА), активность глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатионредуктазы (ГР). Полученные результаты подвергали статистической обработке. Введение дельтаметрина лабораторным крысам в дозе 1/5 $ЛД_{50}$ вызывает изменения метаболизма в органах репродуктивной системы: семенниках, эпидидимисе, предстательной железе и семенных пузырьках. Через 1-3 суток у крыс отмечается увеличение содержания в органих лактата, пирувата, урата, Фн и МДА. Это свидетельствует о нарушении энергетического обмена и усилении процессов липопероксидации, что ведет и снижению уровня глутатиона. Дефицит глутатиона усугубляется повышени-

ем активности антиоксидантных ферментов (ГПО и ГР). Пусковым механизмом развития окислительного стресса в органах репродуктивной системы является нарушение энергетического обмена, вызванное глубоким катаболизмом пуринов до мочевой кислоты. Этот процесс сопровождается усиленной генерацией свободных радикалов и истощением пула неферментативных антиоксидантов. Снижение функции антиоксидантной системы на фоне накопления в органах репродуктивной системы МДА свидетельствует о развитии окислительного стресса.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Дельтаметрин широко применяется в сельском хозяйстве и ветеринарной медицине [1, 2]. Однако в последние годы в научной литературе стали появляться данные о влиянии дельтаметрина и других синтетических пиретроидов на репродуктивную систему и, в частности, на качество семенной жидкости [3, 4]. При этом механизмы развития этих нарушений до конца не раскрыты. Некоторые авторы научных публикаций по данной тематике предполагают, что причиной нарушений в органах репродуктивной системы может быть развитие в них окислительного стресса [5, 6]. В отдельных работах встречаются данные об усилении процессов свободнорадикального окисления и перекисного окисления липидов (ПОЛ) в семенниках при воздействии на организм дельтаметрина и других пиретроидов [3, 4]. При этом не описаны триггерные механизмы развития окислительного стресса.

Цель данной работы – определить пусковые механизмы окислительного стресса в органах репродуктивной системы у крыс при воздействии на организм синтетического пиретроида дельтаметрина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Эксперимент проведен на 48 лабораторных крысах-самцах, которых делили на 4 группы (n=12). Масса тела животных на момент включения в эксперимент колебалась в пределах 230-250 г. Крысы 1-й и 3-й групп были контрольными, им вводили в желудок физиологический раствор. Животным 2-й и 4-й групп вводили внутрь однократно синтетический пиретроид дельтаметрин в дозе 17,4 мг/кг массы тела (1/5 $ЛД_{50}$). Крыс выводили из эксперимента в два этапа: крыс 1-й и 2-й групп – через сутки после начала эксперимента, 3-й и 4-й – через трое суток после введения физиологического раствора или дельтаметрина соответственно. В ходе эксперимента использовали дельтаметринсодержащий препарат «Бутокс 50» («Butox® 50») (производитель «Intervet Productions S.A.», Франция). При проведении эксперимента соблюдали требования Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях.

После завершения опыта у крыс под наркозом извлекали репродуктивные органы (семенники, придатки, предстательную железу, семенные пузырьки) и замораживали в жидком азоте. Далее органы без предварительного размораживания подвергали гомогенизации в стеклянном гомогенизаторе Поттера с добавлением 0,15M раствора KCl при 0-2°C. После центрифугирования в надосадочной жидкости гомогенатов определяли содержание общего белка, пирувата, лактата, неорганического фосфата (Pi) и мочевой кислоты унифицированными методами, а также концентрацию глутатиона, малонового диальдегида (МДА), активность глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатионредуктазы (ГР). В работе использовали реактивы и готовые наборы реактивов фирм «Human» (Германия), «Hospitex» (Швейцария, Италия), «Randox» (Великобритания), а также биохимический анализатор «Screen Master» («Hospitex», Швейцария, Италия), спектрофотометр «UNICO-2802S» («United Products & Instruments», США).

Полученные в ходе эксперимента данные обрабатывали с помощью программы «Statistica 10» («StatSoft», США). Парные сравнения между опытом и соответствую-

щим ему контролем проводили с использованием непараметрического *U*-критерия Манна-Уитни. Результаты представлены как *Me* – медиана, Q_1 – нижний квартиль, Q_3 – верхний квартиль. Различия считались статистически значимыми при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Введение дельтаметрина лабораторным крысам в дозе 1/5 $ЛД_{50}$ вызывает изменения метаболизма в органах репродуктивной системы. Через сутки концентрация молочной и пировиноградной кислот в семенниках увеличивается на 13,6 (p=0,0099) и 27,9% (p=0,0251) соответственно в сравнении с контрольной группой (табл. 1 и 2).

Таблица 1 – Концентрация молочной кислоты (мкмоль/г ткани) в органах репродуктивной системы крыс после введения дельтаметрина в дозе 17,4 мг/кг массы тела, *Me* (Q_1–Q_3)

Группы	Орган			
	Семенники	Эпидидимис	Предстательная железа	Семенные пузырьки
1 сутки				
1-я группа (контроль) n=12	0,535 (0,491-0,547)	0,489 (0,457-0,520)	0,312 (0,276-0,410)	0,117 (0,075-0,146)
2-я группа (дельтаметрин) n=12	0,608 (0,542-0,640) p=0,0099	0,579 (0,491-0,612) p=0,0005	0,391 (0,347-0,452) p=0,0308	0,185 (0,157-0,218) p=0,0263
3 сутки				
3-я группа (контроль) n=12	0,519 (0,487-0,597)	0,494 (0,435-0,539)	0,290 (0,255-0,391)	0,130 (0,081-0,129)
4-я группа (дельтаметрин) n=12	0,639 (0,527-0,668) p=0,0075	0,592 (0,506-0,671) p=0,0003	0,430 (0,385-0,501) p=0,0006	0,204 (0,170-0,265) p=0,0130

Содержание лактата и пирувата в эпидидимисе у животных первой группы превышает контрольные значения на 18,4 (p=0,0005) и 31,9% (p=0,0127) соответственно. Статистически значимое повышение уровня этих органических кислот отмечается также в предстательной железе и семенных пузырьках (табл. 1 и 2). Это указывает на интенсификацию анаэробного окисления глюкозы и нарушение энергообеспечения метаболических процессов, вероятно, за счет снижения окисления пирувата в пируватдегидрогеназном комплексе и цикле Кребса, что в свою очередь связано со снижением поступления кислорода в периферические ткани вследствие централизации кровообращения, вызванной стресс-реакцией на введение высокой дозы дельтаметрина. Похожую картину мы наблюдали при введении циперметрина [7]. Вероятно, по этой же причине в ткани семенников и других репродуктивных органов поступает меньшее количество глюкозы, при этом она тратится в анаэробном окислении для компенсации энергодефицита, развившегося в результате снижения поступления в ткани кислорода. Дефицит энергии способствует разрушению пуриновых мононуклеотидов через активацию

аденилаткиназной реакции [8, 9]. За счет этого клетки получают энергию из молекул АДФ, но это ведет к накоплению АМФ и запускает глубокий катаболизм пуринов. Дальнейшему разрушению пуринов также способствуют аденозиндезаминаза и 5'-нуклеотидаза, активность которых возрастает под влиянием молочной и пировиноградной кислот [10]. Увеличение концентрации данных кислот в органах репродуктивной системы при действии дельтаметрина отмечено выше.

Скорость образования и утилизации большинства метаболитов пуринового обмена высока, что затрудняет их использование в качестве биомаркеров [11]. Однако Фн и урат метаболизируются заметно медленнее других продуктов катаболизма пуриновых нуклеотидов [12]. В связи с этим нами были выбраны именно эти два показателя для оценки интенсивности распада пуринов и, что немаловажно для данного исследования, – ксантиноксидазной прооксидантной системы. Данная прооксидантная система, на наш взгляд, может быть основным источником активированных кислородных метаболитов (АКМ) у экспериментальных животных. Существует прямая зависимость между скоростью распада пуринов до мочевой кислоты и продукцией АКМ в ксантиноксидзной реакции [13].

Интенсивное дефосфорилирование нуклеозидтри-, -ди- и -монофосфатов (АТФ, ГТФ, АДФ, ГДФ, АМФ ГМФ и др.) на начальных этапах распада пуринов ведет к накоплению в ткани семенников и других репродуктивных органах Фн. Концентрация Фн в семенниках и эпидидимисе увеличена на 43,1 (p=0,0089) и 65,7% (p=0,0053) соответственно в сравнении с контрольной группой (рис. 1). Содержание Фн в предстательной железе и семенных пузырьках у животных первой группы превышает контрольные значения на 74,1 (p=0,0105) и 57,6% (p=0,0081) соответственно (рис. 1).

Таблица 2 – Содержание пировиноградной кислоты (мкмоль/г ткани) в органах репродуктивной системы крыс после введения дельтаметрина в дозе 17,4 мг/кг массы тела, *Me* (Q_1–Q_3)

Группы	Орган			
	Семенники	Эпидидимис	Предстательная железа	Семенные пузырьки
1 сутки				
1-я группа (контроль) n=12	0,043 (0,038-0,045)	0,047 (0,039-0,051)	0,026 (0,017-0,033)	0,013 (0,008-0,021)
2-я группа (дельтаметрин) n=12	0,055 (0,043-0,067) p=0,0251	0,062 (0,048-0,073) p=0,0127	0,035 (0,023-0,042) p=0,0160	0,027 (0,017-0,033) p=0,076
3 сутки				
3-я группа (контроль) n=12	0,041 (0,034-0,047)	0,043 (0,035-0,049)	0,023 (0,019-0,029)	0,011 (0,007-0,023)
4-я группа (дельтаметрин) n=12	0,059 (0,054-0,065) p=0,0074	0,065 (0,053-0,078) p=0,0051	0,040 (0,033-0,051) p=0,0006	0,028 (0,019-0,032) p=0,0008

Несмотря на то, что мочевая кислота не является конечным продуктом катаболизма пуринов у крыс, скорость ее дальнейшего распада лимитирована, что ведет к ее накоплению в условиях активного распада АМФ, гипоксантина и других пуринов [8]. У животных 2-й группы отмечается увеличение концентрации мочевой кислоты в семенниках и эпидидимисе соответственно на 17,8 (p=0,0090) и 17,2% (p=0,0137) в сравнении с контролем (рис. 2), а также в простате и семенных пузырьках на 33,3 (p=0,0109) и 127% (p=0,0074). Повышению концентрации урата и Фн в исследуемых органах может также способствовать повреждение молекул нуклеиновых кислот. Ранее сообщалось о том, что пиретроиды обладают генотоксическим действием и вызывают повреждение ДНК и РНК в различных органах [14, 15].

При воздействии дельтаметрина в органах репродуктивной системы отмечается нарушение глутатионового редокс-цикла и снижение концентрации глутатиона, необходимого для стабилизации структуры ксантиндегидрогеназы, – способствующей образованию урата без генерации АКМ [8]. В нашем опыте мы отмечали снижение концентрации глутатиона в семенниках крыс 2-й группы в сравнении с контролем (табл. 3). Снижение содержания глутатиона в семенниках и других органах при воздействии дельтаметрина может способствовать конверсии ксантиндегидрогеназы в ксантиноксидазу. В семенниках и эпидидимисе крыс 2-й группы отмечается снижение содержания глутатиона на 33,3 (p=0,0304) и 21,2% (p=0,0211) в сравнении с контролем (табл. 3), а также в предстательной железе и семенных пузырьках на 33,9 (p=0,0213) и 43,2% (p=0,0008) соответственно.

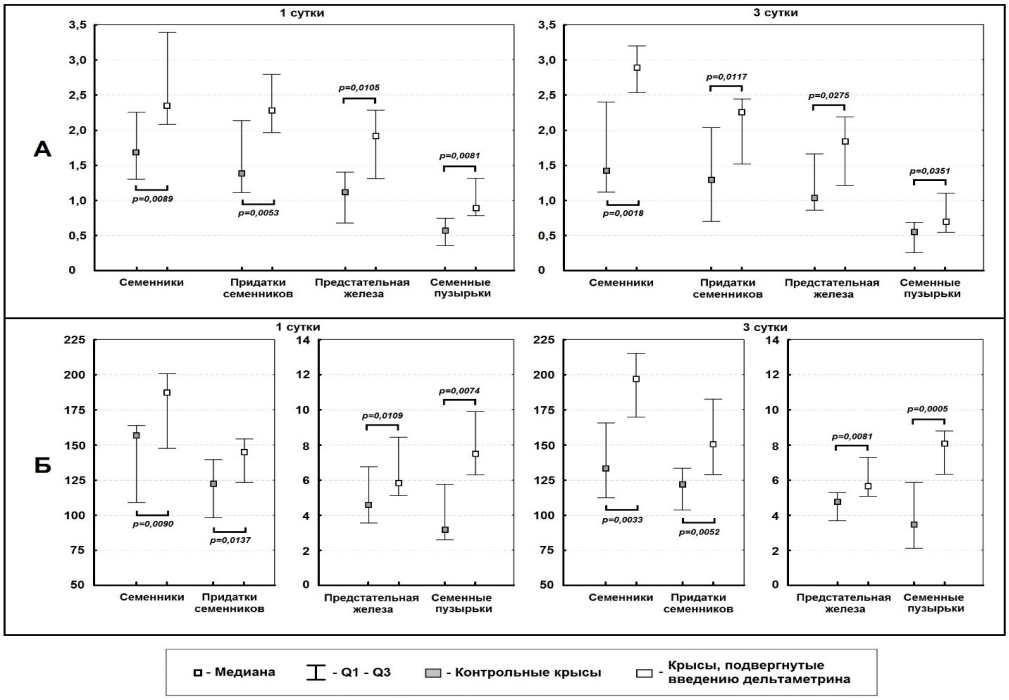


Рисунок 1 – Концентрация неорганического фосфата (А) (мкмоль/г ткани) и мочевой кислоты (Б) (мкмоль/г ткани) в органах репродуктивной системы крыс после введения дельтаметрина в дозе 17,4 мг/кг массы тела, Me (Q_1–Q_3), n=12.

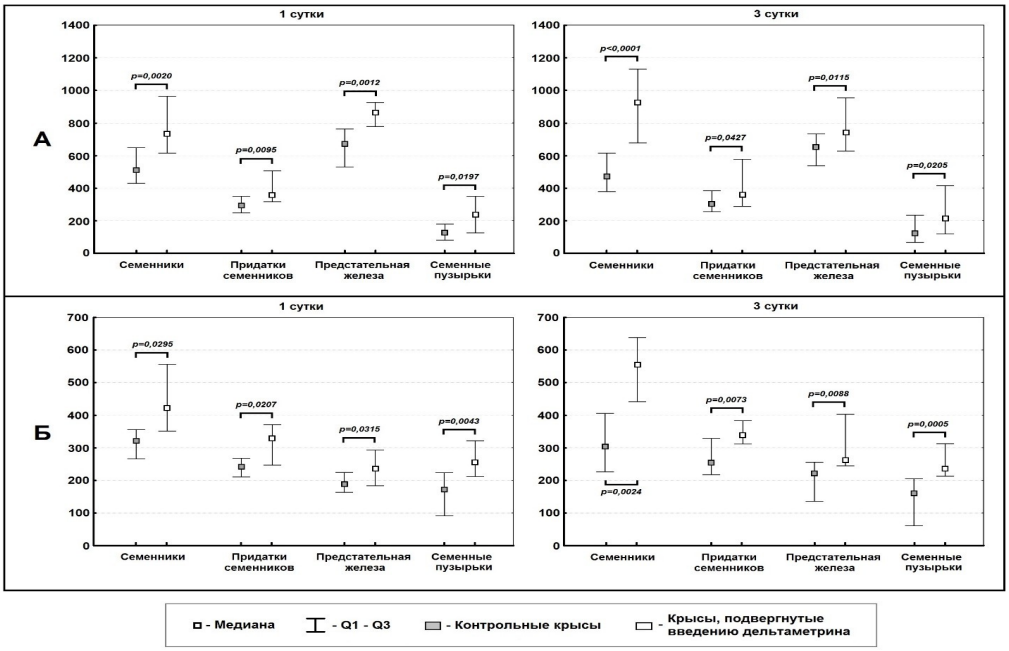


Рисунок 2 – Активность глутатионпероксидазы (А) (Ед./мг белка) и глутатионредуктазы (Б) (Ед./мг белка) в органах репродуктивной системы крыс после введения дельтаметрина в дозе 17,4 мг/кг массы тела, Me (Q_1–Q_3), n=12.

Таблица 3 – Содержание глутатиона (нмоль/мг белка) в органах репродуктивной системы крыс после введения дельтаметрина в дозе 17,4 мг/кг массы тела, *Me (Q_1–Q_3)*

Группы	Орган			
	Семенники	Эпидидимис	Предстатель-ная железа	Семенные пузырьки
1 сутки				
1-я группа (контроль) n=12	18,6 (14,1-23,8)	16,5 (11,5-18,2)	18,3 (13,2-22,9)	10,1 (7,45-12,0)
2-я группа (дельтаметрин) n=12	12,4 (9,54-16,2) p=0,0304	13,0 (7,09-13,8) p=0,0211	12,1 (10,7-13,0) p=0,0213	5,74 (3,26-7,66) p=0,0008
3 сутки				
3-я группа (контроль) n=12	20,8 (14,9-24,1)	17,0 (12,8-21,3)	15,9 (12,1-20,3)	9,47 (7,71-13,6)
4-я группа (дельтаметрин) n=12	9,31 (7,27-15,9) p=0,0021	9,02 (6,88-11,0) p=0,0093	8,28 (7,00-11,5) p=0,0183	4,98 (3,64-6,79) p=0,0002

Таблица 4 – Концентрация малонового диальдегида (нмоль/мг белка) в органах репродуктивной системы крыс после введения дельтаметрина в дозе 17,4 мг/кг массы тела, *Me* (Q_1–Q_3)

Группы	Орган			
	Семенники	Эпидидимис	Предстательная железа	Семенные пузырьки
1 сутки				
1-я группа (контроль) n=12	50,1 (37,8-65,8)	42,6 (31,5-54,8)	29,4 (25,4-33,1)	14,6 (9,13-20,3)
2-я группа (дельтаметрин) n=12	69,3 (58,1-81,7) p=0,0263	60,3 (48,4-80,7) p=0,0071	62,7 (41,0-72,5) p=0,0062	27,9 (17,8-42,1) p=0,0180
3 сутки				
3-я группа (контроль) n=12	41,4 (35,4-61,9)	39,3 (27,1-50,0)	27,4 (22,6-37,1)	16,2 (8,93-18,9)
4-я группа (дельтаметрин) n=12	84,7 (76,3-112) p=0,0001	68,2 (57,0-85,3) p=0,0005	70,1 (59,8-81,0) p<0,0001	31,0 (19,3-46,2) p=0,0035

Из-за избытка промежуточных продуктов катаболизма пуринов и конверсии ксантиндегидрогеназы происходит активация ксантиноксидазной прооксидантной системы, что ведет к усиленной генерации АКМ. Интенсификация свободнорадикальных реакций сопровождается усилением ПОЛ в мембранных структурах функциональных клеток семенников и других репродуктивных органов. Об этом свидетельствует накопление в них МДА. Концентрация данного продукта ПОЛ в семенниках и эпидидимисе крыс 2 -й группы на 38,3 (p=0,0263) и 41,5% (p=0,0071) выше в сравнении с контролем (табл. 4). Похожие изменения отмечаются и в других органах репродуктивной системы (табл. 4). Накоплению продуктов ПОЛ в них также способствует снижение концентрации глутатиона, отмеченное выше.

Стимуляция антиоксидант-респонсивного элемента продуктами ПОЛ и АКМ способствует увеличению активности ГПО и ГР. У крыс 2-й группы отмечается увеличение активности ГПО в семенниках и эпидидимисе соответственно на 41,1 (p=0,0020) и 17,4% (p=0,0095) в сравнении с контрольными животными (рис. 2), а также в простате и семенных пузырьках на 27,7 (p=0,0012) и 44,1% (p=0,0197). Аналогичные изменения отмечаются и в активности ГР (рис. 2). Гиперпродукция АКМ и продуктов ПОЛ на фоне истощения пула неферментативных антиоксидантов в органах репродуктивной системы после введения дельтаметрина в дозе 1/5 $ЛД_{50}$ способствует развитию начальной стадии окислительного стресса.

Спустя трое суток после введения дельтаметрина в семенниках, эпидидимисе, предстательной железе и семенных пузырьках у крыс сохраняются метаболические нарушения (табл. 1-4; рис. 1 и 2). В 4-й группе у животных отмечается статистически значимое увеличение содержания лактата, пирувата, урата, Фн, МДА на фоне снижения уровня глутатиона (табл. 1-4; рис. 1 и 2). Увеличение концентрации молочной и пировиноградной кислот через трое суток после введения дельтаметрина, подтверждает наличие гипоксических изменений и стимулирует катаболизм пуринов в организме крыс. Последний процесс, в свою очередь, способствует генерации значительного количества АКМ, Фн и мочевой кислоты.

Главным источником АКМ в этих условиях, по-видимому, является ксантиноксидазная реакция. Активация ксантиноксидазной прооксидантной системы сопровождается накоплением мочевой кислоты, которая в физиологических концентрациях проявляет антиоксидантные свойства, но при накоплении ее антиоксидантные свойства снижаются, так как продуктов ПОЛ при этом не становится меньше (табл. 4). Снижение антиоксидантной защиты на фоне активации прооксидантых систем и процессов ПОЛ способствует сохранению в органах репродуктивной системы крыс окислительного стресса в течение трех суток после введения синтетического пиретроида дельтаметрина.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, развитие окислительного стресса в органах репродуктивной системы при воздействии дельтаметрина может быть обусловлено нарушением энергетического обмена, сопровождающимся глубоким катаболизмом пуринов с накоплением мочевой кислоты. Этот процесс характеризуется усиленной генерацией АКМ и истощением пула неферментативных антиоксидантов. Снижение функции антиоксидантной системы на фоне накопления в органах репродуктивной системы МДА – продукта липопероксидации – свидетельствует о развитии окислительного стресса. Отмеченные изменения, вероятно, могут вызвать снижение эндокринной функции семенников и качества семенной жидкости. Для этого необходимы дальнейшие исследования в этом направлении.

TRIGGERS OF OXIDATIVE STRESS IN REPRODUCTIVE ORGANS OF RATS EXPOSED TO DELTAMETHRIN

Chigrinski E.A.[1]* – Doctor of Biological Sciences, Associate Professor (ORCID: 0000-0002-0844-4090); **Gerunova L.K.**[2] – Doctor of Veterinary Sciences, Professor (ORCID: 0000-0003-0835-9352); **Gerunov T.V.**[2] – Doctor of Biological Sciences, Deputy Director for Academic and Scientific Work (ORCID: 0000-0002-5594-2666); **Dits L.A.**[3] – endocrinologist

[1]Omsk State Medical University
[2]Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin
[3]Omsk Regional Clinical Hospital

* dr.chigrinski@mail.ru

ABSTRACT

Deltamethrin is widely used in agriculture and veterinary medicine. In recent years, data have begun to appear in the scientific literature on the effect of deltamethrin and other synthetic pyrethroids on the reproductive system and, in particular, on the quality of seminal fluid. However, the mechanisms of development of these disorders are not fully understood. The purpose of this work is to determine the triggers of oxidative stress in reproductive organs of rats exposed to deltamethrin. The study was conducted on 48 male laboratory rats with a body weight of 230-250 g. Metabolic changes in the testes after a single administration of deltamethrin at a dose of 17.4 mg/kg body weight (1/5 LD_{50}) were assessed after 1 and 3 days. The evaluation criteria were the content of pyruvic, lactic and uric acids, inorganic phosphate (Pi), glutathione, malondialdehyde (MDA), the activity of glutathione peroxidase (GPx) and glutathione reductase (GR) in the organs of the reproductive system. The obtained results were subjected to statistical processing. Administration of deltamethrin to laboratory rats at a dose of 1/5 LD_{50} causes changes in metabolism in the reproductive organs: testicles, epididymis, prostate gland and seminal vesicles. After 1-3 days, an increase in the content of lactate, pyruvate, urate, Pi, and MDA in the rats' organs was noted. This indicates a violation of energy metabolism and increased lipoperoxidation processes, which leads to a decrease in glutathione levels. Glutathione deficiency is aggravated by the increased activity of antioxidant enzymes (GPx and GR). The trigger mechanism for the development of oxidative stress in the organs of the reproductive system is the disruption of

energy metabolism caused by the deep catabolism of purines to uric acid. This process is accompanied by increased generation of free radicals and depletion of the pool of non-enzymatic antioxidants. A decrease in the function of the antioxidant system against the background of MDA accumulation in the organs of the reproductive system indicates the development of oxidative stress.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Lissenden, N. Review and Meta-Analysis of the Evidence for Choosing between Specific Pyrethroids for Programmatic Purposes / N. Lissenden, M.D. Kont, J. Essandoh [et al.] // Insects. – 2021. – Vol. 12, No 9. – P. 826. – DOI 10.3390/insects12090826.
2. Горбенко, А.Д. Синтетические пиретроиды и природные пиретрины – обзор / А. Д. Горбенко, Я. А. Морозова, Е. П. Севостьянова [и др.] // Вестник аграрной науки. – 2024. – № 5(110). – С. 3-15. – DOI 10.17238/issn2587-666X.2024.5.3.
3. Osama, E. Chlorella vulgaris ameliorates testicular toxicity induced by deltamethrin in male rats via modulating oxidative stress / E. Osama, A.A.A. Galal, H. Abdalla, S.M.A. El-Sheikh // Andrologia. – 2019. – Vol. 51, No 3. – E. 13214. – DOI 10.1111/and.13214.
4. Zhang, X. Pyrethroids Toxicity to Male Reproductive System and Offspring as a Function of Oxidative Stress Induction: Rodent Studies / X. Zhang, T. Zhang, X. Ren [et al.] // Front Endocrinol. (Lausanne). – 2021. – Vol. 12. – P. 656106. – DOI 10.3389/fendo.2021.656106.
5. Chigrinski, E.A. Glutathione-related enzyme activity in rats' testes and epididymis at an acute intoxication with a synthetic pyrethroid deltamethrin / E.A Chigrinski, V.D. Conway, L.K. Gerunova, T.V. Gerunov // Int. J. Pharma Bio Sci. – 2015. – Vol. 6, No 4. – P. B340-B344. – EDN ARDDFE.
6. Hozyen, H.F. Nano selenium protects against deltamethrin-induced reproductive toxicity in male rats / H.F. Hozyen, H.M.A. Khalil, R.A. Ghandour [et al.] // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2020. – Vol. 408. – P. 115274. – DOI 10.1016/j.taap.2020.115274.
7.Chigrinski, E.A. Trigger Mechanisms of Cypermethrin-Induced Changes of Metabolism: An Experimental Study / E.A. Chigrinski, L.K. Gerunova, T.V. Gerunov, N.V. Shorin, L.A. Dietz // Int. J. Biomed. – 2023. – Vol. 13, No 2. – P. 309-312. – DOI 10.21103/Article13(2)_OA21.
8. Конвай, В.Д. Острое нарушение метаболизма пуринов как фактор ишемического повреждения / В.Д. Конвай // Омский научный вестник. – 2009. – № S1 (84). – С. 45-48. – EDN YHYACR.
9. Золин, П.П. Влияние рибозы на уровни мононуклеотидов в печени в раннем постреанимационном периоде / П.П. Золин, В.Д. Конвай // Дальневосточный медицинский журнал. – 2017. – № 4. – С. 78-81. – EDN YKYVNL.
10.Cheng, B. Evidence for control of adenosine metabolism in rat oxidative skeletal muscle by changes in pH / B. Cheng, H.C. Essackjee, H.J. Ballard // J. Physiol. – 2000. – Vol. 522, Pt. 3. – P. 467-477. – DOI 10.1111/j.1469-7793.2000.t01-1-00467.x.
11.Cicero, A.F.G. Purine Metabolism Dysfunctions: Experimental Methods of Detection and Diagnostic Potential / A.F.G. Cicero, F. Fogacci, V. Di Micoli [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2023. – Vol. 24, No 8. – P. 7027. – DOI 10.3390/ijms24087027.
12.Maiuolo, J. Regulation of uric acid metabolism and excretion / J. Maiuolo, F. Oppedisano, S. Gratteri [et al.] // Int. J. Cardiol. – 2016. – Vol. 213. – P. 8-14. – DOI 10.1016/j.ijcard.2015.08.109.
13.Shen, S. Uric acid aggravates myocardial ischemia-reperfusion injury via ROS/NLRP3 pyroptosis pathway / S. Shen, F. He, C. Cheng, B. Xu, J. Sheng // Biomed. Pharmacother. – 2021. – Vol. 133. – P. 110990. – DOI 10.1016/j.biopha.2020.110990.
14.Abdul-Hamid, M. Lycopene reduces deltamethrin effects induced thyroid toxicity and DNA damage in albino rats / M. Abdul-Hamid, M. Salah // J. Basic Appl. Zool. – 2013. – Vol. 66, No 4 – P. 155-163. – DOI 10.1016/j.jobaz.2013.08.001.
15.Atef, M.M. Targeting ERK/COX-2 signaling pathway in permethrin-induced testicular toxicity: a possible modulating effect of matrine / M.M. Atef, O.S. El-Deeb, M.T. Sadek [et al.] // Mol. Biol. Rep. – 2020. – Vol. 47, No 1. – P. 247-259. – DOI 10.1007/

s11033-019-05125-7.

REFERENCES

1. Lissenden, N. Review and Meta-Analysis of the Evidence for Choosing between Specific Pyrethroids for Programmatic Purposes / N. Lissenden, M.D. Kont, J. Essandoh [et al.] // Insects. – 2021. – Vol. 12, No 9. – P. 826. – DOI 10.3390/insects12090826.
2. Gorbenko, A.D. Synthetic pyrethroids and natural pyrethrins – review / A.D. Gorbenko, Ya.A. Morozova, E.P. Sevostyanova [et al.] // Bulletin of Agrarian Science. – 2024. – No 5(110). – P. 3-15. – DOI 10.17238/issn2587-666X.2024.5.3. (in Russ.)
3. Osama, E. Chlorella vulgaris ameliorates testicular toxicity induced by deltamethrin in male rats via modulating oxidative stress / E. Osama, A.A.A. Galal, H. Abdalla, S.M.A. El -Sheikh // Andrologia. – 2019. – Vol. 51, No 3. – E. 13214. – DOI 10.1111/and.13214.
4. Zhang, X. Pyrethroids Toxicity to Male Reproductive System and Offspring as a Function of Oxidative Stress Induction: Rodent Studies / X. Zhang, T. Zhang, X. Ren [et al.] // Front Endocrinol. (Lausanne). – 2021. – Vol. 12. – P. 656106. – DOI 10.3389/fendo.2021.656106.
5. Chigrinski, E.A. Glutathione-related enzyme activity in rats' testes and epididymis at an acute intoxication with a synthetic pyrethroid deltamethrin / E.A Chigrinski, V.D. Conway, L.K. Gerunova, T.V. Gerunov // Int. J. Pharma Bio Sci. – 2015. – Vol. 6, No 4. – P. B340-B344. – EDN ARDDFE.
6. Hozyen, H.F. Nano selenium protects against deltamethrin-induced reproductive toxicity in male rats / H.F. Hozyen, H.M.A. Khalil, R.A. Ghandour [et al.] // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2020. – Vol. 408. – P. 115274. – DOI 10.1016/j.taap.2020.115274.
7. Chigrinski, E.A. Trigger Mechanisms of Cypermethrin-Induced Changes of Metabolism: An Experimental Study / E.A. Chigrinski, L.K. Gerunova, T.V. Gerunov, N.V. Shorin, L.A. Dietz // Int. J. Biomed. – 2023. – Vol. 13, No 2. – P. 309-312. – DOI 10.21103/Article13(2)_OA21.
8. Konvay, V.D. Acute disorder of purine metabolism as a factor of ischemic damage / V.D. Konvay // Omsk Scientific Bulletin. - 2009. - No. S1 (84). - P. 45-48. (in Russ.) – EDN YHYACR.
9. Zolin, P.P. Ribose increases levels of the liver mononucleotides, decreased in the postresusciation period / P.P. Zolin, V.D. Conway // Far East Medical Journal. – 2017. – № 4. – C. 78-81. (in Russ.) – EDN YKYVNL.
10. Cheng, B. Evidence for control of adenosine metabolism in rat oxidative skeletal muscle by changes in pH / B. Cheng, H.C. Essackjee, H.J. Ballard // J. Physiol. – 2000. – Vol. 522, Pt. 3. – P. 467-477. – DOI 10.1111/j.1469-7793.2000.t01-1-00467.x.
11. Cicero, A.F.G. Purine Metabolism Dysfunctions: Experimental Methods of Detection and Diagnostic Potential / A.F.G. Cicero, F. Fogacci, V. Di Micoli [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2023. – Vol. 24, No 8. – P. 7027. – DOI 10.3390/ijms24087027.
12. Maiuolo, J. Regulation of uric acid metabolism and excretion / J. Maiuolo, F. Oppedisano, S. Gratteri [et al.] // Int. J. Cardiol. – 2016. – Vol. 213. – P. 8-14. – DOI 10.1016/j.ijcard.2015.08.109.
13. Shen, S. Uric acid aggravates myocardial ischemia-reperfusion injury via ROS/NLRP3 pyroptosis pathway / S. Shen, F. He, C. Cheng, B. Xu, J. Sheng // Biomed. Pharmacother. – 2021. – Vol. 133. – P. 110990. – DOI 10.1016/j.biopha.2020.110990.
14. Abdul-Hamid, M. Lycopene reduces deltamethrin effects induced thyroid toxicity and DNA damage in albino rats / M. Abdul-Hamid, M. Salah // J. Basic Appl. Zool. – 2013. – Vol. 66, No 4 – P. 155-163. – DOI 10.1016/j.jobaz.2013.08.001.
15. Atef, M.M. Targeting ERK/COX-2 signaling pathway in permethrin-induced testicular toxicity: a possible modulating effect of matrine / M.M. Atef, O.S. El-Deeb, M.T. Sadek [et al.] // Mol. Biol. Rep. – 2020. – Vol. 47, No 1. – P. 247-259. – DOI 10.1007/s11033-019-05125-7.

УДК: 619:616:59.084:59.089: 615.21/.26
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.203

ИЗУЧЕНИЕ СУБХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ БЕЛКОВО-ЛИПИДНОЙ МУКИ, ПОЛУЧЕННОЙ ИЗ HERMETIA ILLUCENS (LINNAEUS, 1758)

Глазунова Л.А.* – д-р ветеринар. наук, проф. каф. морфологии, физиологии и общей патологии (ORCID 0000-0003-4050-5903); **Столбова О.А.** – д-р ветеринар. наук, зав. каф. незаразных болезней с-х. животных (ORCID 0000-0002-4545-815X); **Краснолобова Е.П.** – канд. ветеринар. наук, доц. каф. морфологии, физиологии и общей патологии (ORCID 0000-0002-2260-5639); **Веремеева С.А.** – канд. ветеринар. наук, доц. каф. морфологии, физиологии и общей патологии (ORCID 0000-0002-3656-6837); **Калугина Е.Г.** – канд. ветеринар. наук, доц. каф. незаразных болезней с-х. животных (ORCID 0000-0002-1894-8604); **Михайлов М.В.** – преподаватель каф. инфекционных и инвазионных болезней (ORCID 0009-0006-1098-8421); **Плохотникова Ю.М.** – ветеринар. врач ветеринарной клиники (ORCID 0009-0003-4580-6665)

ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья

* glazunovala@gausz.ru

Ключевые слова: *Hermetia illucens, белые мыши, лабораторные животные, белково-липидная мука, токсичность, кормовая добавка, доклинические исследования, альтернативные белки.*

Key words: *Hermetia illucens, white mice, laboratory animals, protein-lipid meal, toxicity, feed additive, preclinical studies, alternative proteins.*

Поступила: 18.08.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Высокая востребованность в кормовом белке для животных стимулирует проведение исследований по поиску технологий, позволяющих получать альтернативным путем качественные белковые субстраты, которые высокопитательны и отвечают требованиям безопасности. Наиболее перспективными объектами для производства белка являются мухи черная львинка (*Hermetia illucens* L.) для выращивания которых эффективно использовать отходы животноводства и птицеводства. Целью исследования явилось изучение субхронической токсичности белково-липидной муки, полученной в результате переработки биологических отходов птицефабрик с использованием черной львинки, на лабораторных животных. Исследования проводили на белых лабораторных мышах, которым скармливали по 1000 мг/кг, 200 мг/кг и 100 мг/кг белково-липидной муки в течение девяносто суток. Установлено, что при вольном пероральном введении (с контролем поедаемости) белково-липидной муки, полученной в результате переработки биологических отходов птице-

фабрик с использованием *H. illucens* во всех испытуемых дозах не отмечено изменений в общем и клиническом состоянии лабораторных животных. К девяностому дню эксперимента зафиксировано увеличению массы тела подопытных животных на 5,8-26,9% от первоначальной. Гибель животных была зарегистрирована во всех подопытных группах. За весь период наблюдений из опыта выбыло 18,6% животных из подопытных групп, из которых 85,7% погибли по причинам, связанным с кормлением вследствие острого расширения желудка и кишечника, и некротического нефроза. После завершения эксперимента у 12,5% мышей выявили лейкоцитарную инфильтрацию железистой части желудка. Не установлено зависимости от увеличения дозы, получаемого продукта. Патоморфологические изменения, связанные с кормлением зафиксированы у 13,6% мышей, получавших белково-липидную муку в дозе 1000 мг/кг, у 15,0% мышей, получавших 200 мг/кг и у 31,0%, получавших продукт в дозе 100 мг/кг.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Для обеспечения пищевых потребностей постоянно растущего населения планеты необходимо повышать объемы сельскохозяйственной продукции. Особенно значительно увеличивается необходимость в продуктах питания животного происхождения, которые содержат весь спектр необходимых жирных и аминокислот. Для обеспечения исполнения «Доктрины продовольственной безопасности Российской Федерации» и реализации генетического потенциала животных необходимо модернизировать систему кормопроизводства, включая в рационы обогащенные корма, способные повышать продуктивность животных и питательность сырья и переработанных продуктов [1].

Изменения геополитической ситуации значительно повлияли на рынок кормов и кормовых добавок. Использование импортных компонентов корма стало нерентабельным и потребовало от производителей пересмотра стратегии подхода к кормовой и сырьевой базам. Рост спроса и цен на комбикорма, увеличение фальсификации кормового сырья, в частности рыбной муки и рыбьего жира, вынуждает искать альтернативные источники белкового и жирового сырья, не уступающие по качеству и цене существующим [1, 2].

Во всем мире исследователи находятся в поиске технологий, позволяющих получать альтернативным путем качественные белковые субстраты, которые будут отвечать высоким требованиям безопасности и быть высокопитательными. Одним из вариантов решения проблемы обеспечения животных кормовым белком является использование протеина энтомологического происхождения [3]. Наиболее перспективным источником белка являются мухи черная львинка (*Hermetia illucens* L.) и домовые сверчки (*Acheta domesticus* L.) [4-7] биоконверсия кормов, у которых очень высокая [7]. Причем для выращивания насекомых не требуются специализированные и дорогостоящие субстраты [8, 9]. Так, для выращивания черной львинки подходят отходы животноводства и птицеводства, что делает ее уникальным продуцентом и открывает новые перспективы с экологической точки зрения [10, 11].

Для широкого применения нового продукта в кормлении животных необходимо проведения цикла доклинических и клинических исследований, которые позволят убедиться в ее безопасности и эффективности. Проведенные эксперименты по изучению острой пероральной токсичности позволили установить отсутствие выраженных токсических проявлений при однократном внутрижелудочном введении белково-липидной муки в дозе 2000 мг/кг [12], что позволило нам перейти к следующему этапу исследовательской работы и изучить субхроническую токсичность продукта.

Цель исследования - изучить субхроническую токсичность белково-липидной муки, полученной в результате переработки биологических отходов птицефабрик с использованием черной львинки, на лабораторных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Научную работу проводили в период 2023-2025 гг. на базе кафедр Института биотехнологии и ветеринарной медицины ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья. Белково-липидную муку получали в лаборатории промышленной энтомологии ГАУ Северного Зауралья при культивировании *H. illucens* при температуре воздуха 26 ± 0,5 °С, относительной влажности 65-75%, с фотопериодом 16:8 L:D ч. Основу рациона личинок составлял куриный корм для несушек (с добавлением равного объёма воды) и куриный помет в соотношении 1:1 [11].

Изучение субхронической токсичности белково-липидной муки осуществляли согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических свойств» ГОСТ 12.1.007-76 и 32296-2013, с учетом требований Приказа Министерства сельского хозяйства Российской Федерации от 06.03.2018 года №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», в соответствии с руководством Р 1.2.3156-13 «Оценка токсичности и опасности химических средств и их смесей для здоровья человека» [13, 14, 15, 16, 17].

Исследовательскую работу проводили с лабораторными животными в соответствии с требованиями Директивы 2010/63 EU Европейского парламента, совета Европейского союза от 22.09.2010 года по охране животных, используемых в научных целях [4, 14, 15, 18].

Изучение субхронической токсичности было проведено на основе экспериментальных данных, полученных при оценки острой токсичности, где индивидуальная доза составляла 2000 мг/кг живой массы лабораторных животных [12].

В экспериментах по изучению субхронической токсичности задействовали белых мышей (*Mus albus officinarum*), для кормления которых использовали комбикорм полнорационный для лабораторных животных, соответствующий ГОСТ 34566-2019. Питьевая вода для животных была в свободном доступе в течении всего опыта. Согласно ГОСТ 32647-2014 за 7 дней до проведения опыта, животные проходили адаптацию в лабораторных условиях, вода без ограничений. Перед введением подкормки каждое животное взвешивали и производили расчет дозы исследуемой подкормки. Животных содержали в виварии в стандартных условиях: температура воздуха 20-24 °С, относительная влажность 50-60%, 12-часовой цикл светлого и темного времени суток. Для кормления животных использовался брикетированный комбикорм полнорационный для лабораторных животных, соответствующий ГОСТ 34566-2019, и профильтрованная питьевая вода, задавалась в стандартных автоматических поилках. В экспериментах использовали белых мышей с медианной начальной массой тела 20-25 грамм.

Для оценки субхронической токсичности белково-липидной просеянной муки животных разделили на три экспериментальные группы, где в 1 группе животные получали подкормку в дозе 1000 мг/кг (1/2 от дозы острой токсичности 2000 мг/кг массы тела животного). Во второй группе лабораторные животные получали белково-липидную муку в дозе 200 мг/кг (1/10 от дозы острой токсичности 2000 мг/кг массы тела животного) и третья группа животных получала подкормку в дозе 100 мг/кг (1/20 от дозы острой токсичности 2000 мг/кг массы тела животного). Для контроля использовали равноценную группу животных, в рационе которых был лишь комбикорм полнорационный. За животными осуществляли наблюдение в течении 90 суток. Всего в опыте задействовано 100 особей белых мышей, которых разделили на четыре группы по 25 мышей в каждой.

Дачу кормовой добавки осуществляли в утренние часы. Контроль поедания бо-

люса с заданной кормовой добавкой проводили визуально. После полного употребления исследуемой дозы животные получали полноценный суточный рацион через 1-1,5 часа. Мыши ежедневно подвергались клиническому осмотру трижды в день. Все животные, выбывшие в течение срока эксперимента, а также по окончании периода исследований были направлены для патологоанатомических и патоморфологических исследований.

Вскрытие трупов непродуктивных животных проводили в секционном зале (прозектории) согласно ГОСТу Р 57547-2017 «Патологоанатомическое исследование трупов непродуктивных животных. Общие требования». С целью изучения морфологического состояния органов мышей, проводили гистологическое исследование, при этом взятый орган фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина. Проводили через спирты разной крепости и заливали в парафин по общепринятой методике [19]. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Изучение и фотографирование гистопрепаратов проводили при помощи светового микроскопа Levenhug Med Series – окуляр 10, объективы 4, 20 и 40. На гистологических препаратах оценивали состояние гистологических структур различных органов.

Статистическую обработку данных проводили при помощи программы MS Excel и Biostat, при $p<0,05$. Работа выполнена в рамках государственного задания № 075-03-2023-162/6 «Разработка технологий переработки побочных продуктов животноводства с созданием кормовых добавок, био- и органоминеральных удобрений».

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Из-за плохой растворимости белково-липидной просеянной муки введение испытуемой добавки осуществляли перорально вольно, предварительно сформировав индивидуальные болюсы из испытуемой добавки.

При наблюдении за общим состоянием мышей всех экспериментальных групп изменений не отмечено. В результате динамичного наблюдения, в ходе которого мы оценивали общее состояние подопытных животных, их поведенческие, двигательные реакции, пищевые рефлексы, реакции на внешние раздражители, отмечено, что мыши полностью поедали корм и, согласно физиологическому состоянию, пили воду (без жадности) и адекватно реагировали на стандартные манипуляции. Животные сохраняли подвижность, нарушений двигательной активности у животных опытных и контрольной групп выявлено не было. Волосяной покров сохранял гладкость и яркость, признаков взъерошенности не наблюдали. Лишь у одной мыши в первой опытной группе (доза 1000 мг/кг) была отмечена алопеция на 48 день опыта на затылочной части головы и взъерошенность волосяного покрова.

При оценке общего состояния животных подопытных групп по отношению к контрольной группе, участвовавших в опыте, нами не было отмечено отклонений в физиологических реакциях и состояний.

Для оценки влияния белково-липидной муки на массу тела животных осуществляли еженедельное контрольное взвешивание (таблице 1).

В результате проведенных исследований установлено, что масса тела мышей по отношению к первоначальной массе в первой группе (1000 мг/кг) на 30 день опыта увеличилась на 7,8%, на 60 день опыта – 16,0% и на 90 день опыта на 26,9%. Во второй опытной группе (200 мг/кг) у животных, получающих белково-липидную муку, масса тела была на 30 день уменьшена на 3,8%, на 60 день опыта массы тела животных увеличилась на 4,4% и на 90 день увеличилась на 5,8%. В третьей опытной группе (100 мг/кг) масса тела уменьшилась на 2,6%, на 60 день увеличилась на 2,1%, и на 90 день опыта увеличилась на 12,2%.

При анализе выживаемости животных при изучении субхронической токсичности белково-липидной муки, полученной в результате переработки биологических отходов птицефабрик с использованием

насекомых, проводимого на лабораторных белых мышах нами было отмечено, что за период эксперимента зафиксирована гибель 18,6% (n=14) животных в подопытных группах. Так, в первой опытной группе (доза 1000 мг/кг) нами отмечена гибель– 16,0% животных (n=4), во второй группе (доза 200 мг/кг) – 28,0% животных (n=7) и в 3 группе (доза 100 мг/кг) – 12,0% животных (n=3) от первоначально участвовавших в эксперименте (рисунок 1).

При анализе результатов, полученных при проведении патоморфологических исследований установлено, что подопытные животные в течение эксперимента 85,7% (n=12) выбыли по причинам, связанных с кормлением (рисунок 2). В каждой подопытной группе зафиксирована смерть подопытных животных, вызванная острым расширением желудка и кишечника. Погибших животных обнаруживали в утреннее время, при этом накануне вечером при осмотре не выявляли изменений в состоянии животных. Также, в третьей группе (100 мг/кг) зарегистрирована гибель у 14,3% мышей, у которых выявлен некротический нефроз (рисунок 3).

Таблица 1 – Влияние длительного (в течение девяноста суток) перорального введения белково-липидной муки на массу тела мышей, грамм

Период, дни	1 группа (1000мг/кг) (M±m; n=25)	2 группа (200 мг/кг) (M±m; n=25)	3 группа 100 мг/кг (M±m; n=25)	4 группа (контроль) (M±m; n=25)
7	19,64±0,58*	25,15±0,15	21,97±0,38	28,08±0,49
14	20,36±0,18	24,95±0,21	23,17±0,45	28,08±0,37
21	19,91±0,34	23,8±0,12	22,48±0,15	28,67±0,45
28	21,95±0,15	25,53±0,55	23,93±0,25	29,82±0,68
35	21,95±0,05	24,0±0,35	22,57±0,47	27,56±0,45
42	22,71±0,25	22,29±0,42	23,62±0,58	27,88±0,42
49	23,10±0,17	27,07±0,36	22,96±0,34	28,0±0,45
56	23,10±0,20	24,86±0,42	22,96±0,19	28,0±0,35
63	23,56±0,45	24,86±0,34	22,96±0,20	28,0±0,48
70	23,62±0,37	24,69±0,31	23,18±0,35	23,07±0,55
77	23,88±0,25	25,27±0,65	23,68±0,40	23,22±0,47
84	24,89±0,26	23,58±0,54	23,61±0,64	25,22±0,35
90	24,91±0,31	26,55±0,35	24,41±0,47	25,41±0,45

*Примечание: *здесь и далее p<0,05.*

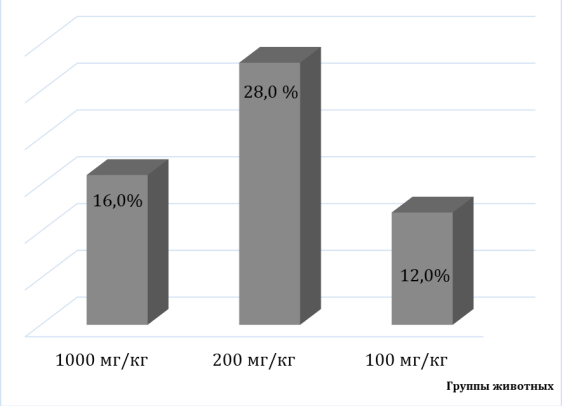


Рисунок 1 – Доля павших лабораторных животные в период доклинического исследования субхронической токсичности белково-липидной муки, %.

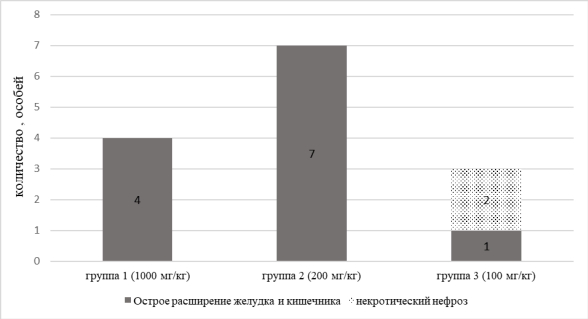


Рисунок 2 – Причины выбытия, связанные с кормлением у мышей из подопытных групп.

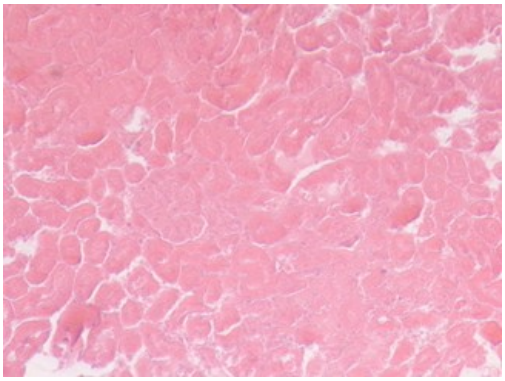


Рисунок 3 – Участок некротического нефроза коркового слоя почек мыши 3 группы, окраска гематоксилин-эозин, ув.× 200

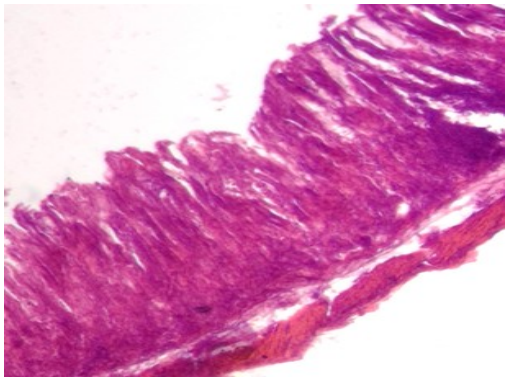


Рисунок 4 – Лейкоцитарная инфильтрация в слизистой оболочки желудка мыши первой группы (1000 мг/кг), окраска гематоксилин-эозин, ув.×200.

На протяжении всего опыта среди мышей контрольной группы клинических признаков токсемии и гибель животных не зафиксированы.

На завершающем этапе эксперимента по оценке субхронической токсичности белково-липидной муки все подопытные животные были выведены из эксперимента с соблюдением требований Европейской конвенции по защите экспериментальных животных 86/609/ЕЕС и подвергнуты патологоанатомическому вскрытию с целью взятия материала для дальнейших исследований.

При внешнем осмотре и гистологических исследованиях 87,5 % у мышей не выявили отклонений в структуре органов и тканей.

У 12,5% мышей (n=6) зафиксировали лейкоцитарную инфильтрацию железистой части желудка мышей (рисунок 4). Так, признаки гастрита были выявлены у 2, 5 и 6 мышей в первой, второй и третьей подопытной группах соответственно. Анализируя полученные результаты установлено, что применение белково-липидной муки, полученной в результате переработки биологических отходов птицефабрик с использованием черной львинки прямо не коррелировало с негативными эффектами для белых мышей в субхроническом эксперименте. Так, патоморфологические изменения, связанные с кормлением зафиксированы у 13,6% мышей, получавших белково-липидную муку в дозе 1000 мг/кг, у 15,0% мышей, получавших 200 мг/кг и у 31,0%, получавших продукт в дозе 100 мг/кг. Достоверно установить зависимость поедаемой дозы белково-липидной муки и гибели животных не удалось. Необходимы дополнительные исследования по изучению хро-

нической токсичности.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

При изучении субхронической токсичности белково-липидной муки, полученной в результате переработки биологических отходов птицефабрик с использованием *H. illucens* при вольном пероральном введении её белым лабораторным мышам в дозах 1000 мг/кг, 200 мг/кг, 100 мг/кг не отмечено изменений в общем и клиническом состоянии. К девяностому дню эксперимента зафиксировано увеличению массы тела подопытных животных на 5,8-26,9% от первоначальной. Гибель животных была зарегистрирована во всех подопытных группах. За весь период наблюдений из опыта выбыло 18,6% животных из подопытных групп, из которых 85,7% погибли по причинам, связанным с кормлением вследствие острого расширения желудка и кишечника и некротического нефроза. После завершения эксперимента у 12,5% мышей, выявили лейкоцитарную инфильтрацию железистой части желудка. Негативные эффекты не имели прямой корреляции с дозой получаемой кормовой добавки, так как патоморфологические изменения, связанные с кормлением зафиксированы у 13,6% мышей, получавших белково-липидную муку в дозе 1000 мг/кг, у 15,0% мышей, получавших 200 мг/кг и у 31,0%, получавших продукт в дозе 100 мг/кг. За период эксперимента установлено, что скармливание белково-липидной муки показало положительные эффекты, которые выражались в увеличении массы тела, ярком и гладком волосяном покрове. Так как в процессе наблюдения выявлена гибель животных, связанная с острым расширением желудка, а при патоморфологическом исследовании выявлены гастрит и некротический нефроз, необходимо проведение исследований по изучению хронической токсичности и переносимости изучаемого продукта.

STUDY OF SUBCHRONIC TOXICITY OF PROTEIN-LIPID FLOUR OBTAINED FROM HERMETIA ILLUCENS (LINNAEUS, 1758)

Glazunova L.A.* – D.Sc. (Veterinary Science), Professor, Department of Morphology, Physiology and General Pathology (ORCID 0000-0003-4050-5903); **Stolbova O.A.** – D.Sc. (Veterinary Science), Head of the Department of Non-Communicable Diseases of Agricultural Animals (ORCID 0000-0002-4545-815X); **Krasnolobova E.P.** – Ph.D. (Veterinary Science), Associate Professor, Department of Morphology, Physiology and General Pathology (ORCID 0000-0002-2260-5639); **Veremeeva S.A.** – Ph.D. (Veterinary Science), Associate Professor, Department of Morphology, Physiology and General Pathology (ORCID 0000-0002-3656-6837); **Kalugina E.G.** – Ph.D. (Veterinary Science). sciences, associate professor of the department of non-communicable diseases of agricultural animals (ORCID 0000-0002-1894-8604); **Mikhailov M.V.** – lecturer of the department of infectious and invasive diseases (ORCID 0009-0006-1098-8421); **Plokhotnikova Yu.M.** – veterinarian of the veterinary clinic (ORCID 0009-0003-4580-6665).

FGBOU VO GAU of the Northern Trans-Urals

** glazunovala@gausz.ru*

ABSTRACT

The high demand for animal feed protein stimulates research into technologies that allow obtaining alternative high-quality protein substrates that are highly nutritious and meet safety requirements. The most promising objects for protein production are black soldier flies (Hermetia illucens L.), for the cultivation of which it is effective to use livestock and poultry waste. The aim of the study was to investigate the subchronic toxicity of protein-lipid meal obtained by processing biological waste of poultry farms using black soldier flies on laboratory animals. The studies were conducted on white laboratory mice, which were fed 1000 mg/kg, 200 mg/kg and 100 mg/kg of protein-lipid meal for ninety days. It was found that with free oral administration (with palatability control) of protein-lipid meal obtained as a result of processing biological waste of poultry farms using H. illucens in all tested

doses, no changes in the general and clinical condition of laboratory animals were noted. By the ninetieth day of the experiment, an increase in the body weight of the experimental animals by 5.8-26.9% of the initial was recorded. Death of animals was recorded in all experimental groups. Over the entire observation period, 18,6% of animals from the experimental groups dropped out of the experiment, of which 85,7% died for reasons related to feeding due to acute intestinal dilation and necrotic nephrosis. After the completion of the experiment, 12.5% of the mice were found to have leukocyte infiltration of the glandular part of the stomach. No dependence on an increase in the dose of the obtained product was established. Pathomorphological changes associated with feeding were recorded in 13.6% of mice receiving protein-lipid flour at a dose of 1000 mg/kg, in 15,0% of mice receiving 200 mg/kg and in 31.0% receiving the product at a dose of 100 mg/kg.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Мальцева, Т. А. Инновационная технология получения биологически ценных кормовых добавок из личинки мухи Черная львинка, HermetiaIllucens / Т. А. Мальцева. – Москва: Общество с ограниченной ответственностью "Русайнс", 2023. – 196 с. – ISBN 978-5-466-03052-5. – EDN JZHHZP.

2.Lu S., Taethaisong N., Meethip W., Surakhunthod J., Sinpru B., Sroichak T. Nutritional Composition of Black Soldier Fly Larvae (Hermetia illucens L.) and Its Potential Uses as Alternative Protein Sources in Animal Diets: A Review // Insects. 2022. V. 13. №831. https://doi.org/10.3390/insects13090831

3.Питательные свойства личинок Hermetia illucens L. - нового кормового продукта для молодняка свиней (Sus scrofa domesticus Erxleben) / Р. В. Некрасов, М. Г. Чабаев, А. А. Зеленченкова [и др.]. // Сельскохозяйственная биология. – 2019. – Т. 54, № 2. – С. 316-325. – https://doi.org/10.15389/agrobiology.2019.2.316rus.

4.Ляшенко, Е. М. Перспективы использования личинок мухи черная львинка для производства аминокислот для кормов и кормовых добавок животных / Е. М. Ляшенко, А. Е. Шакирова, К. С. Агапова // Молодежные разработки и инновации в решении приоритетных задач АПК : Материалы Международной научной конференции студентов, аспирантов и учащейся молодежи, профессора И.Н. Никитина, ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ, 28–29 марта 2024 года. – Казань: Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана, 2024. – С. 164-166. – EDN TTJAOB.

5.Технология переработки биологических отходов птицефабрик с использованием черной львинки (Hermetia illucens) и полученииемценной продукции / Е. В. Коваль, А. А. Лящев, И. А. Прок, Н. А. Валов // АПК: инновационные технологии. – 2022. – № 3. – С. 28-35. https://doi.org/10.35524/2687-0436_2022_03_28.

6.Матросова С. В., Лябзина С. Н., Горбач В. В., Ильмаст Ю. Н. Оценка эффективности кормления радужной форели (Oncorhynchus mykiss) диетой на основе личинки черной львинки // Известия КГТУ. 2023. № 71. С. 11–23. https:/doi.org/10.46845/ 1997-3071-2023-71-11-23.

7.Лапин, А. А. Биохимическое исследование насекомых, используемых в кормах для рыбоводства по антиоксидантной активности / А. А. Лапин, М. С. Талан, И. С. Докучаева // Бутлеровские сообщения. – 2019. – Т. 58, № 6. – С. 91-96. – EDN ZXLJAL.

8.Бастраков, А. И. Муха черная львинка Hermetia illucens в условиях искусственного разведения - возобновляемый источник меланин-хитозанового комплекса /А. И. Бастраков, А. Е. Донцов, Н. А. Ушакова // Известия Уфимского научного центра РАН. – 2016. – № 4. – С. 77-79.

9.Влияние жира Черной львинки на резистентность молодняка крупного рогатого скота / Р. В. Некрасов, Д. А. Никанова, М. Г. Чабаев [и др.] //Ветеринария и кормление. – 2024. – № 3. – С. 87-91. https://doi.org/10.30917/ATT-VK-1814-9588-2024-3-16.

10.Горбулина, А. Р. Получение кормового белка из личинок мухи вида Черная львинка (Hermetia illucens) /А. Р. Горбулина, К. Г. Кузнецова, А. П. Письменная // Альманах научных работ молодых ученых университета ИТМО: Пятьдесят вторая (LII) научная и учебно-методическая конференция Университета ИТМО, Санкт-Петербург, 31 января – 03 2023 года. – Санкт-Петербург: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Национальный исследовательский университет ИТМО", 2023. – С. 245-248.
11.Переработка куриного помета с использованием личинок черной львинки (Hermetia illucens): обзор / С. В. Свергузова, И. Г. Шайхиев, Ж. А. Сапронова, И. В. Бомба // Птицеводство. – 2021. – № 2. – С. 68-73. https://doi.org/10.33845/0033-3239-2021-70-2-68-73.
12.Изучение острой пероральной токсичности белково-липидной муки, полученной из Hermetia illucens (Linnaeus, 1758) / О. А. Столбова, Л. А. Глазунова, А. А. Никонов [и др.] // АПК: инновационные технологии. – 2024. – № 4(67). – С. 15-25. – https://doi.org/10.35524/2687-0436_2024_04_14. – EDN PYLNEU.
13.Руководство по проведению доклинических средств, ред. А.Н. Миронов, М., «Гриф и К», 2012, 944 с.
14.Приказ Министерства сельского хозяйства Российской Федерации от 06.03.2018 года №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.
15.ГОСТ 12.1.007-76 Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности: утверд. Постановлением Госстандарта СССР от 10.03.1976. – М.: Издательство стандартинформ, 1976. – 7с. ISBN 5225042198.
16.ГОСТ 32637-2014 Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Повторное исследование пероральной токсичности на грызунах: 90 дневное. межгос. стандарт: изд. офиц.: дата введения 01.06.2015. – Москва: Стандартинформ, 2015. - 12 с.
17. Оценка токсичности и опасности химических средств и их смесей для здоровья человека: руководство. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2014. – 639 с.
18.ГОСТ 33215-2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур (Переиздание): межгос. стандарт: изд. офиц.: дата введения 01.07.2016. – Москва: Стандартинформ, 2019. - 13 с.
19.Хонин, Г.А. Морфологические методы исследования в ветеринарной медицине учебное пособие. / Г.А. Хонин, С.А. Барашкова, В. В. Семченко – Омск: Омская областная типография. – 2004. – 198 с.

REFERENCES

1. Maltseva, T. A. Innovative technology for obtaining biologically valuable feed additives from the larva of the Black soldier fly, HermetiaIllucens / T. A. Maltseva. - Moscow: Limited Liability Company "Rusains", 2023. - 196 p. - ISBN 978-5-466-03052-5. - EDN JZHHZP. (In Russ)
2. Lu S., Taethaisong N., Meethip W., Surakhunthod J., Sinpru B., Sroichak T. Nutritional Composition of Black Soldier Fly Larvae (Hermetia illucens L.) and Its Potential Uses as Alternative Protein Sources in Animal Diets: A Review // Insects. 2022. V. 13. No. 831. https://doi.org/10.3390/insects13090831
3. Nutritional properties of Hermetia illucens L. larvae - a new feed product for young pigs (Sus scrofa domesticus Erxleben) / R. V. Nekrasov, M. G. Chabaev, A. A. Zelenchenkova [et al.]. // Agricultural biology. - 2019. - Vol. 54, No. 2. - P. 316-325. - https://doi.org/10.15389/agrobiology.2019.2.316rus. (In Russ)
4. Lyashenko, E. M. Prospects for the use of black soldier fly larvae for the production of amino acids for animal feed and feed additives / E. M. Lyashenko, A. E. Shakirova, K.

S. Agapova // Youth developments and innovations in solving priority problems of the agro-industrial complex: Proceedings of the International Scientific Conference of Students, Postgraduates and Young People, Professor I. N. Nikitin, Kazan State Academy of Veterinary Medicine, March 28–29, 2024. – Kazan: Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman, 2024. – P. 164–166. – EDN TTJAOB. (In Russ)
5. Technology of processing biological waste of poultry farms using black soldier fly (Hermetia illucens) and obtaining valuable products / E. V. Koval, A. A. Lyashchev, I. A. Prok, N. A. Valov // AIC: innovative technologies. - 2022. - No. 3. - P. 28-35. https://doi.org/10.35524/2687-0436_2022_03_28. (In Russ)
6. Matrosova S. V., Lyabzina S. N., Gorbach V. V., Ilmast Yu. N. Evaluation of the efficiency of feeding rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) with a diet based on black soldier fly larvae // Bulletin of KSTU. 2023. No. 71. P. 11–23. https:/ doi.org/10.46845/ 1997-3071-2023-71-11-23. (In Russ)
7. Lapin, A. A. Biochemical study of insects used in fish feed for antioxidant activity / A. A. Lapin, M. S. Talan, I. S. Dokuchaeva // Butlerov communications. - 2019. - Vol. 58, No. 6. - Pp. 91-96. - EDN ZXLJAL. (In Russ)
8. Bastrakov, A. I. Black soldier fly Hermetia illucens under artificial breeding conditions - a renewable source of melanin-chitosan complex / A. I. Bastrakov, A. E. Dontsov, N. A. Ushakova // Bulletin of the Ufa Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. – 2016. – No. 4. – P. 77-79. (In Russ)
9. The effect of Black soldier fly fat on the resistance of young cattle / R. V. Nekrasov, D. A. Nikanova, M. G. Chabaev [et al.] // Veterinary science and feeding. – 2024. – No. 3. – P. 87-91. https://doi.org/10.30917/ ATT-VK-1814-9588-2024-3-16. (In Russ)
10. Gorbulina, A. R. Obtaining feed protein from the larvae of the Black soldier fly (Hermetia illucens) /A. R. Gorbulina, K. G. Kuznetsova, A. P. Pismennaya // Almanac of scientific works of young scientists of ITMO University: Fifty-second (LII) scientific and educational-methodical conference of ITMO University, St. Petersburg, January 31 – March 03, 2023. – St. Petersburg: Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "National Research University ITMO", 2023. – P. 245-248. (In Russ)
11. Processing of chicken manure using black soldier fly larvae (Hermetia illucens): review / S. V. Sverguzova, I. G. Shaikhiev, Zh. A. Sapronova, I. V. Bomba // Poultry farming. – 2021. – No. 2. – P. 68-73. https:// doi.org/10.33845/0033-3239-2021-70-2-68-73. (In Russ)
12. Study of acute oral toxicity of protein-lipid flour obtained from Hermetia illucens (Linnaeus, 1758) / O. A. Stolbova, L. A. Glazunova, A. A. Nikonov [et al.] // APK: innovative technologies. - 2024. - No. 4 (67). - P. 15-25. - https://doi.org/10.35524/2687-0436_2024_04_14. - EDN PYLNEU. (In Russ)
13. Guide to the conduct of preclinical agents, ed. A. N. Mironov, M., "Griffin i K", 2012, 944 p. (In Russ)
14. Order of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation of 06.03.2018 No. 101 "On approval of the rules for conducting a preclinical study of a medicinal product for veterinary use, a clinical study of a medicinal product for veterinary use, a bioequivalence study of a medicinal product for veterinary use. (In Russ)
15. GOST 12.1.007-76 Harmful substances. Classification and general safety requirements: approved. by the Resolution of the USSR State Standard of 10.03.1976. - M .: Standartinform Publishing House, 1976. - 7 p. ISBN 5225042198. (In Russ)
16. GOST 32637-2014 Test methods for the effect of chemical products on the human body. Repeated oral toxicity study in rodents: 90 days. intergos. standard: ed. office: date of introduction of the 01.06.2015. - Moscow: Standartinform, 2015. - 12 p. (In Russ)
17. Assessment of toxicity and hazard of chemical agents and their mixtures to human health: guidance. - M.: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospo-

trebnadzor, 2014. - 639 p. (In Russ)
18. GOST 33215-2014 Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for equipping premises and organizing procedures (Reprint): interstate standard: official ed.: date of introduction 01.07.2016. - Moscow: Standartinform, 2019. - 13 p. (In Russ)
19. Khonin, G.A. Morphological research methods in veterinary medicine a textbook. / G.A. Khonin, S.A. Barashkova, V.V. Semchenko - Omsk: Omsk Regional Printing House. - 2004. - 198 p. (In Russ).

УДК: 615.324.099:595.3
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.214

ОЦЕНКА ОБЩЕЙ И ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА И ДИАТОМИТА IN VIVO

Балыкина А.Б. * – канд. ветеринар. наук, доц. каф. биохимии и физиологии (ORCID 0000-0001-5373-4794); **Карпенко Л.Ю.** – д-р биол. наук, проф., зав. каф. биохимии и физиологии (ORCID 0000-0002-2781-5993); **Киянчук М.В.**– асс. каф. биохимии и физиологии (ORCID 0009-0006-2884-9630); **Никонов И.Н.** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-9495-0178)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*andreeva-a-83@mail.ru

Ключевые слова: хитозан, *Danio rerio*, *Paramecium caudatum,* общая токсичность, острая токсичность.

Keywords: chitosan, *Danio rerio*, *Paramecium caudatum*, general toxicity, acute toxicity.

Финансирование: При поддержке: исследование выполнено при поддержке гранта российского научного фонда № 25-26-00175 Молекулярно-генетические механизмы формирования иммунитета и микробиома рубца у молодняка крупного рогатого скота под влиянием хитозана (https://grant.rscf.ru/site/user/bids?role=master).

Поступила: 12.08.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Хитозан и его производные также используются в фармацевтике в качестве вспомогательного вещества, носителя лекарственного средства или терапевтического агента. Исследование проводили на базе кафедры биохимии и физиологии ФГБОУ ВО СПБГУВМ. Выполнили систематическое обобщение литературы по токсикологическим исследованиям хитозана (*in vitro* и *in vivo*). Целью данного исследования явилась проверка безопасности кормовой добавки, содержащей хитозан, методами биотестирования на общую токсичность. Экспериментальный образец кормовой добавки был наработан на основе диатомита обожженного (0,3-0,7 мм) и концентрата водорастворимого хитозана. Токсичность при многократном введении *in vivo.* Определяли общую токсичность и острую токсичность на *Danio rerio* согласно ГОСТу 31674-2012 «Корма, комбикорма, комбикормовое сырьё. Методы определения общей токсичности». Инфузории содержались в среде Лозина-Лозинского, приготовленной по ГОСТу 31674-2012. Проводили оценку влияния водного экстракта на тест-систему в микроаквариумах, в качестве которых использовали иммунологические планшеты. Контроль за выживанием проводился с использованием светового микроскопа при увеличении 100х. Наблюдения осуществлялись, как и в контрольном растворе так и в водном экстракте через 30 мин, 1 час, 2 часа

и 3 часа после начала эксперимента. Биотестирование проводилось с двойным повторением для каждой пробы. Выживаемость инфузорий через 3 часа в водном экстракте неразведенного образца составляет 83%; выживаемость инфузорий через 3 часа в водном экстракте разведенного образца составляет 83%. Результаты исследований показали, что представленный образец кормовой добавки, содержащей хитозан и диатомит, является нетоксичным (безвредным). В статье также обсуждаются возможные механизмы токсического действия хитозана и рекомендации по безопасному применению в ветеринарии.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Во всём мире наблюдается повышенный интерес к использованию биоактивных молекул, таких как хитозан, в качестве лечебно-профилактического средства [1,2,3,4]. Благодаря своей биоразлагаемости, биологической совместимости, антимикробным свойствам, антиоксидантной активности и высокой безопасности хитозан потенциально может применяться в самых разных областях, в том числе в сельском хозяйстве в целях улучшения молочной, мясной продуктивности и повышения резистентности организма животных к инфекционным болезням [5,6, 7, 8].

Олигосахарид хитозана является основным продуктом распада хитина (часто применяется панцирь омара *Panurilus argus*) в результате химического гидролиза или ферментативного распада с участием процессов деацетилирования и деполимеризации [9, 10].

Несмотря на то, что существует множество данных об оценке токсичности неорганических наночастиц, знания о биоразлагаемых наноматериалах, которые всегда считались безопасными, попрежнему ограничены [11]. Возможности применения хитозана сильно ограничены из-за его чрезвычайно твёрдой кристаллической структуры: он нерастворим при уровне pH выше или равном 7. Это обуславливает необходимость производство легко усваиваемых композиций на основе хитозана [12].

Хитозан способен восстановить фосфорно-кальциевый баланс и защитить функции печени, почек и мозга. Он также снижает уровень кадмия в печени, почках и мозге, а также в костях крыс в экспериментах по оценке действия хитозана [13]. Хитозан обладает локальной биологической активностью в виде гемостатического действия и, наряду со способностью активировать макрофаги и вызывать стимуляцию выработки цитокинов (что вызывает интерес к его применению в ветеринарии), может стать объектом более тщательной оценки его безопасности в качестве биологической добавки для крупного рогатого скота [12]. Наночастицы хитозана широко используются в качестве полимерных носителей лекарственных средств в составе наночастиц благодаря их способности повышать эффективность и безопасность доставки лекарств [13].

Важным критерием для использования хитозана является отсутствие токсичности, поэтому данное исследование посвящено изучению общей токсичности и острой токсичности хитозана с целью дальнейшего его применения в животноводстве. Несмотря на наличие значительного количества исследований в области применения хитозана, всё ещё нет достаточного количества достоверных данных по применению в сельском хозяйстве. Перед оценкой влияния хитозана на молочную и мясную продуктивность крупного рогатого скота необходимо оценить токсичность на лабораторных биологических моделях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Целью данного исследования явилась проверка безопасности кормовой добавки, содержащей хитозан, методами биотестирования на общую токсичность. Экспериментальный образец кормовой добавки был наработан на основе диатомита обожженного (0,3-0,7 мм) и концентрата водорастворимого хитозана. Токсичность при многократном введении *in vivo* включает оценку неблагоприятных эффектов, возникающих в результате повторного ежедневного воздействия дозы вещества

в течение определенного периода времени до ожидаемой продолжительности жизни подопытных животных.

Исследование проводили на базе кафедры биохимии и физиологии ФГБОУ ВО СПБГУВМ. Определяли общую токсичность и острую токсичность на *Danio rerio*, согласно ГОСТ 31674-2012 «Корма, комбикорма, комбикормовое сырьё. Методы определения общей токсичности».

При содержании и умерщвлении животных соблюдали основные принципы Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях, ГОСТ 31674-2012 «Корма, комбикорма, комбикормовое сырьё. Методы определения общей токсичности» и «Правила надлежащей лабораторной практики» (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от1 апреля 2016 года N 199н).

Определение общей токсичности. Культивирование инфузории *Paramecium caudatum* производилось по «ГОСТу 31674-2012. Корма, комбикорма, кормовое сырье. Методы определения общей токсичности».

Осуществляли перевод инфузорий на дрожжевой корм. Инфузории содержались в среде Лозина-Лозинского, приготовленной по ГОСТу 31674-2012, при температуре 25 ºС и искусственном освещении. Состав среды Лозина-Лозинского, следующий: на 1 л d H_2O, NaCl – 0,1 г; KCl – 0,01 г; $CaCl_2$ – 0,01 г; $MgCl_2$ – 0,01 г; $NaHCO_3$ – 0,02 г. [2].

Проводили оценку влияния водного экстракта на тест-систему в микроаквариумах, в качестве которых использовали иммунологические планшеты.

Водный экстракт готовили следующим образом: 10 г пробы помещали в стеклянную емкость для экстракции, добавляли 50 мл среды для культивирования и интенсивно встряхивали в течение 2 минут. Затем, после 10 минут отстаивания, смесь снова встряхивали в течение 2 минут и оставляли отстаиваться на 15-20 минут. Надосадочную жидкость отбирали с помощью шприца и фильтровали через бумажный фильтр.

Контроль за выживанием проводился с использованием светового микроскопа при увеличении 100х. Наблюдения осуществлялись, как и в контрольном растворе так и в водном экстракте через 30 мин, 1 час, 2 часа и 3 часа после начала эксперимента.

Биотестирование проводилось с двойным повторением для каждой пробы. Токсичность образца оценивалась по времени, необходимого для гибели инфузорий. Проба классифицировалась как остротоксичная, если гибель происходила в течение 30 минут, токсичная – если в период от 31 до 60 минут, слаботоксичная - от 1 до 3 часов, нетоксичная – если гибели не наблюдалось в течение трех часов.

Острая токсичность определялась в ходе эксперимента с использованием взрослых особей *Danio rerio* (6,5 месяцев, масса - 0,35±0,01) дикого типа.

Животные содержались в аквариумах при уровне освещения 300-330 пк и фотопериоде 14 часов светлых и 10 часов темных периодов. Температура воды поддерживалась на уровне 27 ± 0,5 °С. Кормление проводилось дважды в день ежедневно сухими гранулами корма и один раз в три дня *Artemia* sp.

В аквариумы была добавлена кормовая добавка в дозе 5,0-0,313 г/л. В ходе эксперимента было изготовлено три концентрации исследуемого комплекса, отличающихся в 2,0 раза. Исследования проводились в соответствии с рекомендациями OECD 203. Рыбы размещались в трехлитровых поликарбонатных резервуарах, по восемь особей в каждом аквариуме (n=48). Распределение рыб по резервуарам осуществлялось в следующем количестве:

Исследования проводили согласно рекомендациям OECD 203. Рыбы помещались в 3-х литровые поликарбонатные резервуары (8 особей в каждом аквариуме, n=48).

Рыб распределяли в резервуары в следующем количестве:

Для каждой концентрации испытуемого вещества в аквариуме содержалось по

8 рыб.

В качестве контрольной группы для мониторинга качества воды в аквариуме использовалось тоже 8 рыб.

Температура в аквариумах с рыбами стабильно поддерживалась на уровне 27° С с погрешностью ± 0,5°С, а продолжительность светового дня составляла 14 часов при 10 часах темноты (интенсивность освещения - 300 люкс). Ежесуточно осуществлялись измерения pH, концентрации растворенного кислорода и температуры.

Уровень смертности в контрольных группах оставался ниже 10%, что согласуется с показателями OECD 203.

Каждые 24 часа в ходе исследования проводился осмотр групп рыб. Рыба признавалась погибшей при обнаружении характерных внешних признаков: неподвижность жаберных крышек и отсутствие реакции на раздражение хвостового стебля. Помимо смертности, наблюдали за изменениями в поведении рыб, а также за появлением пигментации.

В ходе экспериментальных исследований оценивались следующие токсикологические показатели: максимальная безвредная концентрация, которая не привела к гибели особей в течение эксперимента; минимальная концентрация, способная вызвать 100% летальность в течение эксперимента; общий процент погибших особей для каждой концентрации в установленный период наблюдения; значения LC50 через 96 часов с 95% доверительным интервалом.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты определения общей токсичности на тест -системах, представлены в Таблице 1 и 2.

Выживаемость инфузорий через 3 часа в водном экстракте неразведенного образца составляет 83%; выживаемость инфузорий через 3 часа в водном экстракте разведенного образца составляет 83%. Исследуемый образец можно считать нетоксичным.

Результаты определения острой токсичности хитозана на *Danio rerio* представлены в Таблице 3.

Таблица 1 – Выживаемость инфузорий *Paramecium caudatum* при внесении тестируемого комплекса, двух разных концентраций

Выживаемость инфузорий в контрольном растворе					
Время	Номер лунки в микроаквариуме				
	I	II	III	IV	V
В начале опыта	6	6	6	6	6
Через 30 минут	6	6	6	6	6
Через 1 ч.	6	6	6	6	6
Через 2 ч.	6	6	6	6	6
Через 3 ч.	5	6	6	6	6
Выживаемость инфузорий в водном экстракте					
Время	Номер лунки в микроаквариуме				
	I	II	III	IV	V
В начале опыта	6	6	6	6	6
Через 30 минут	6	6	6	6	6
Через 1 час	6	6	5	6	6
Через 2 часа	5	6	5	6	6
Через 3 часа	5	6	5	6	6

Таблица 2 – Выживаемость инфузорий *Paramecium caudatum* при внесении тестируемого комплекса в 3-ёх кратном разведении

Выживаемость инфузорий в водном экстракте					
Время	Номер лунки в микроаквариуме				
	I	II	III	IV	V
В начале опыта	6	6	6	6	6
Через 30 минут	6	6	6	6	6
Через 1 час	6	6	6	6	6
Через 2 часа	6	6	6	6	6
Через 3 часа	6	6	6	5	6

Таблица 3 – Данные о выживаемости *Danio rerio* при внесении тестируемого комплекса

Концентрация, г/л	**24 ч**	**48 ч**	**72 ч**	**96 ч**	**Кол-во погибших рыб, %**
5,0	0	0	0	0	0
2,50	0	0	0	0	0
1,25	0	0	0	0	0
0,625	0	0	0	0	0
0,313	0	0	0	0	0
Контроль	0	0	0	0	0

При применении изучаемого образца хитозана с диатомитом в концентрациях 5,0-0,313 г/л нами не зарегистрирована гибель рыб. Их состояние, при использовании данных концентраций, рассматривалось как удовлетворительное: реакция на внешние раздражители была адекватной (реакция избегания сачка - положительная); потребление корма в пределах физиологической нормы; чешуя плотно прилегает к телу; изменение в состоянии чешуи не отмечено; слизистые оболочки розовые, без видимых патологических изменений.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведено определение общей токсичности на тест-объекте *Paramecium caudatum* и исследование острой токсичности тест объекте *Danio rerio*. Результаты исследований показали, что представленный образец кормовой добавки, содержащей хитозан и диатомит в дозе 5,0-0,313 г/л, является нетоксичным (безвредным). Полученные данные позволяют продолжить исследования для дальнейшего внедрения исследуемого комплекса в схему лечебно-профилактических мероприятий в ветеринарии.

ASSESSMENT OF THE GENERAL AND ACUTE TOXICITY OF A CHITOSAN AND DIATOMITE-BASED FODDER ADDITIVE IN VIVO

Balykina A.B. – PhD of Veterinary Sciences, Assoc. Prof. (ORCID 0000-0001-5373-4794); **Karpenko L.Yu** – D.Biol.sc. Professor (ORCID 0000-0002-2781-5993); **Kiyanchuk M.V.** – assistant of the Department of Biochemistry and Physiology (ORCID 0009-0006-2884-9630;); **Nikonov I.N.** – Cand.biol.sc. (ORCID 0000-0001-9495-0178)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

Financing: The work was carried out within the framework of the Russian Science Foundation grant 25-26-00175 Molecular genetic mechanisms of immunity formation and the rumen microbiome in young cattle under the influence of chitosan. (https://grant.rscf.ru/site/user/bids?role=master)

ABSTRACT

Chitosan and its derivatives are also

used in pharmaceuticals as an excipient, a carrier of a drug or a therapeutic agent. The study was conducted on the basis of the Department of Biochemistry and Physiology of the St. Petersburg State University of Veterinary Medicine. A systematic review of the literature on toxicological studies of chitosan (*in vitro* and *in vivo*) was performed. The aim of this study was to test the safety of a feed additive containing chitosan using bioassay methods for general toxicity. An experimental sample of a feed additive was developed based on burnt diatomite (0.3-0.7 mm) and a concentrate of water-soluble chitosan. Toxicity during repeated administration *in vivo*. The general toxicity and acute toxicity of *Danio rerio* were determined in accordance with GOST 31674-2012 "Feed, compound feed, and feed raw materials. Methods for determining general toxicity." The infusoria were kept in a Lozin-Lozinsky medium prepared according to GOST 31674 -2012. The effect of the aqueous extract on the test system was evaluated in microaquaria using immunological plates. Survival control was performed using a light microscope at a magnification of 100x. Observations were made in both the control solution and the aqueous extract 30 minutes, 1 hour, 2 hours, and 3 hours after the start of the experiment. The biotesting was performed with double repetition for each sample. The survival rate of ciliates after 3 hours in an aqueous extract of the undiluted sample is 83%; the survival rate of ciliates after 3 hours in an aqueous extract of the diluted sample is 83%. The results of the studies showed that the presented sample of a feed additive containing chitosan and diatomite is non-toxic (harmless). The article also discusses possible mechanisms of the toxic effect of chitosan and recommendations for safe use in veterinary medicine.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Балыкина А.Б., Карпенко Л.Ю., Киянчук М.В., Никонов И.Н. Физиолого-биохимические аспекты применения Хитозана в ветеринарии. Международный вестник ветеринарии. – 2025. – № 3. – С. 385-277.

2.Hematological characteristics in pregnant Saanen goats / P. Bokhan, A. Bakhta, L. Karpenko [et al.] // Reproduction in Domestic Animals. – 2019. – Vol. 54, No. S3. – P. 107-108. – EDN OXJEIU.

3.Токсикологическая оценка биопрепарата для компостирования / И. А. Махнин, Л. Ю. Карпенко, И. Н. Никонов [и др.] // Неделя науки ИЭиТ : материалы Всероссийской конференции, Санкт-Петербург, 18–23 ноября 2024 года. – Санкт-Петербург: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого", 2024. – С. 230-232. – EDN KUXDFG.

4.Mycotoxin eliminator "Elitox" in lasttrimester pregnant cows' application impact on immune blood profile of offspring / A. Kozitsyna, L. Karpenko, A. Bakhta [et al.] // Reproduction in Domestic Animals. – 2018. – Vol. 53, No. S2. – P. 153. – EDN YKVLI

5.Meramo-Hurtado S, Ceballos-Arrieta N, Cortes-Caballero J, Leon-Pulido J, Gonzalez -Quiroga A, Gonzalez-Delgado ÁD. Inherent Safety Assessment of Industrial-Scale Production of Chitosan Microbeads Modified with TiO2 Nanoparticles. Biomolecules. 2021 Apr 13;11(4):568. doi: 10.3390/biom11040568. PMID: 33924286; PMCID: PMC8068982.

6. Salsabila S, Khairinisa MA, Wathoni N, Sufiawati I, Mohd Fuad WE, Khairul Ikram NK, Muchtaridi M. In vivo toxicity of chitosan-based nanoparticles: a systematic review. Artif Cells Nanomed Biotechnol. 2025 Dec;53(1):1-15. doi: 10.1080/21691401.2025.2462328. Epub 2025 Feb 9. PMID: 39924869.

7.Abd El-Hack ME, El-Saadony MT, Shafi ME, Zabermawi NM, Arif M, Batiha GE, Khafaga AF, Abd El-Hakim YM, Al-Sagheer AA. Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: A review. Int J Biol Macromol. 2020 Dec 1;164:2726-2744. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.08.153. Epub 2020 Aug 22. Retraction in: Int J Biol Macromol. 2025 Mar;293:139051. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.139051. PMID: 32841671

8. Abdollahimajd F, Pourani MR, Mahdavi H, Mirzadeh H, Younespour S, Moravvej H. Efficacy and safety of chitosan-based biocompatible dressing versus nanosilver (ActicoatTM) dressing in treatment of recalcitrant diabetic wounds: A randomized clinical trial. Dermatol Ther. 2022 Sep;35 (9):e15682. doi: 10.1111/dth.15682. Epub 2022 Jul 25. PMID: 35778935.
9. Lagarto A, Merino N, Valdes O, Dominguez J, Spencer E, de la Paz N, Aparicio G. Safety evaluation of chitosan and chitosan acid salts from Panurilus argus lobster. Int J Biol Macromol. 2015 Jan;72:1343-50. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.10.030. Epub 2014 Oct 24. PMID: 25450835.
10.Naveed M, Phil L, Sohail M, Hasnat M, Baig MMFA, Ihsan AU, Shumzaid M, Kakar MU, Mehmood Khan T, Akabar MD, Hussain MI, Zhou QG. Chitosan oligosaccharide (COS): An overview. Int J Biol Macromol. 2019 May 15;129:827-843. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.01.192. Epub 2019 Jan 29. PMID: 30708011.
11. Baldrick P. The safety of chitosan as a pharmaceutical excipient. Regul Toxicol Pharmacol. 2010 Apr;56(3):290-9. doi: 10.1016/j.yrtph.2009.09.015. Epub 2009 Sep 27. PMID: 19788905.
12.Pramanik S., Sali V. Connecting the dots in drug delivery: A tour d'horizon of chitosan-based nanocarriers system. Int. J. Biol. Macromol. 2021;169:103–121. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.12.083.

REFERENCES

1. Balykina A.B., Karpenko L.Yu., Kiyanchuk M.V., Nikonov I.N. Physiological and biochemical aspects of the application of Chitosan in veterinary medicine. International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2025. – No. 3. – Pp. 385-277. (In Russ.)
2. Hematological characteristics in pregnant Saanen goats / P. Bokhan, A. Bakhta, L. Karpenko [et al.] // Reproduction in Domestic Animals. – 2019. – Vol. 54, No. S3. – Pp. 107-108. – EDN OXJEIU. (In Russ.)
3. Toxicological assessment of a biopreparation for composting / I. A. Makhnin, L. Yu. Karpenko, I. N. Nikonov [et al.] // Week of Science at IEIT: Proceedings of the All-Russian Conference, St. Petersburg, November 18–23, 2024. – St. Petersburg: Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University", 2024. – Pp. 230-232. – EDN KUXDFG. (In Russ.)
4. The effect of the mycotoxin eliminator "Elitox" on the immune profile of the offspring in pregnant cows in the last trimester of pregnancy / A. Kozitsyna, L. Karpenko, A. Bakhta [et al.] // Reproduction in Domestic Animals. – 2018. – Vol. 53, No. S2. – P. 153. – YKVLI Publishing House
5. Meramo-Hurtado S, Ceballos-Arrieta N, Cortez-Caballero J, Leon-Pulido J, Gonzalez -Quiroga A, Gonzalez-Delgado A. Assessment of the internal safety of industrial production of chitosan microbeads modified with TiO2 nanoparticles. Biomolecules. April 13, 2021;11(4):568. doi: 10.3390/biom11040568. PMID: 33924286; PMCID: PMC8068982.
6. Salsabila S., Khairinisa M., Watoni N., Sufiawati I., Mohd Fuad V., Khairul Ikram N.K., Muchtaridi M. Toxicity of chitosan-based nanoparticles in vivo: a systematic review. Biotechnology of Artificial Cells Nanomed. 2025 December;53(1):1-15. doi: 10.1080/21691401.2025.2462328. Published on February 9, 2025. PMID: 39924869.
7. Abd El-Hack Y, El-Saadoni MT, Shafi Y, Zabermawi NM, Arif M, Batihah J, Hafaga AF, Abd El-Hakim YM, Al-Sagir AA. Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: a review. Int J Biol Macromol. 2020 Dec 1;164:2726-2744. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.08.153. Published on August 22, 2020. Published in: Int J Biol Macromol. 2025, March;293:139051. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.139051. Identification number: 32841671
8. Abdollahimaid F., Purani M., Mahdavi H., Mirzadeh H., Yunespour S., Moravvei H. Efficacy and Safety of Chitosan-Based Biocompatible Dressings Compared to Nanosilver Dressings (ActicoatTM) in the Treatment of Refractory Diabetic Wounds: A Randomized Clinical Trial. Dermatol., 2022 Sep;35(9):e15682. doi: 10.1111/publication date:15682. Epub, 2022, July 25. Identifica-

tion number: 35778935.
9.Lagarto A,Merino N,Valdes O,Dominguez J,Spencer E,de la Paz N,Aparicio G. Safety assessment of chitosan and chitosan acid salts from the fungus panurilus argus Int J Biol Macromol. 2015 Jan; 72:1343-50. doi:10.1016/j.ijbiomac. 2014.10.030. Epub 2014 October 24. PMID:25450835.
10. Naveed M,Phil left,Sohail m,Hasnat m,Baig MMFA,Ihsan au,Shumzaid m,Kakar mu,Mehmood t District,Akabar Dr,Hussain Mi, Zhou QG. Chitosan oligosaccharide (COS): an overview. Int J Biol Macromol. 2019 May 15;129:827-843. doi: 10.1016 / j.ijbiomac. 2019.01.192. Epub 2019 Jan 29. PMID:30708011.
11. Hu YL, Qi W, Han F, Shao JZ, Gao JQ. Toxicity evaluation of biodegradable chitosan nanoparticles using a zebrafish embryo model. Int J Nanomedicine. 2011;6:3351-9. doi: 10.2147/IJN.S25853. Epub 2011 Dec 14. PMID: 22267920; PMCID: PMC3260029.
12. Boamah PO, Onumah J, Aduguba WO, Santo KG. Application of depolymerized chitosan in crop production: A review. Int J Biol Macromol. 2023 Apr 30;235:123858. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.123858. Epub 2023 Mar 4. PMID: 36871686.
13. Ait Hamdan Y, Ait Baba A, Azraida H, Kabdy H, Oudadesse H, Chait A, Rhazi M. In vivo evaluation by oral administration of chitosan combined with bioactive glass against cadmium-induced toxicity in rats. Int J Biol Macromol. 2024 Sep;276(Pt 1):133845. doi: 10.1016/ j.ijbiomac.2024.133845. Epub 2024 Jul 14. PMID: 39004258.
14. Baldrick P. The safety of chitosan as an pharmaceutical excipient. Regular toxicol herbs. 2010 Apr; 56 (3):290-9. doi:10.1016/ j.yrtph. 2009.09.015. Epub 2009 Sep 27. PMID:19788905.
15. Pramanik S., Sali V. Interplay in Drug Delivery: A Review of Chitosan-Based Nanocarrier System. Int. J. Biol. Macromol. 2021;169:103-121. doi: 10.1016/ j.ijbiomac.2020.12.083.

УДК: 616.36-07:619
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.222

ВЛИЯНИЕ ГЕПАТОТОКСИКАНТОВ РАЗНЫХ ХИМИЧЕКИХ ГРУПП НА ЭЛИМИНАЦИЮ СОРБИТОЛА

Понамарёв В.С.* – канд. ветеринар. наук, доц. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-6852-3110); **Андреева Н.Л.** – д-р биол. наук, проф. каф. фармакологии и токсикологии

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* psevdopyos@mail.ru

Ключевые слова: сорбитол, клиренс, гепатотоксиканты, фармакокинетика, диагностика, крысы, печень.

Key words: sorbitol, clearance, hepatotoxicants, pharmacokinetics, diagnostics, rats, liver.

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках научного проекта № 24-26-00005 (https://rscf.ru/project/ 24-26-00005/)

Поступила: 03.08.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Гепатотоксиканты представляют собой химические соединения, способные оказывать избирательное повреждающее действие на печень, что может приводить к нарушению её метаболических, дезинтоксикационных и экскреторных функций. В настоящее время актуальной задачей является поиск надёжных биомаркеров для ранней диагностики гепатотоксических состояний, особенно в латентной форме. Целью настоящего исследования явилась оценка влияния различных современных гепатотоксикантов на элиминацию сорбитола из организма лабораторных крыс. В качестве модельных гепатотоксикантов были использованы представители разных химических классов: тетрахлорметан (CCl_4) как классический гепатотоксикант, парацетамол (ацетаминофен) в гепатотоксической дозе и промышленный токсикант N-нитрозодиметиламин (НДМА). Эксперименты проводились на половозрелых крысах-самцах и самках линии Wistar (n=48). Гепатотоксичность индуцировалась однократным введением токсикантов в установленных дозах. Через 24 часа после интоксикации животным внутрибрюшинно вводили сорбитол в дозе 500 мг/кг. Забор крови для определения концентрации сорбитола в плазме проводили через 0, 30, 60, 120, 240, 360 и 480 минут после введения. Результаты показали, что все исследуемые гепатотоксиканты значимо замедляли элиминацию сорбитола по сравнению с контрольной группой, но с разными фармакокинетическими профилями. Наиболее выраженное угнетение клиренса сорбитола наблюдалось при интоксикации CCl_4, что характеризовалось длительным периодом полувыведения ($T_{1/2}$) и высоким площадью под кривой «концентрация-время» (AUC). При интоксикации парацетамолом отмечалось умеренное замедление элиминации, в то время как НДМА вызывал двухфазное изменение уровня сорбитола в плазме с периодом начального замедленного выведения, за которым следовал вторичный подъём концентрации, вероятно, связанный с нарушением энтерогепатической циркуляции.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Печень играет ключевую роль в метаболизме ксенобиотиков, синтезе белков, депонировании гликогена и поддержании гомеостаза. Поражение печени токсическими веществами (гепатотоксикантами) является серьёзной проблемой как в медицине, так и в ветеринарии. Механизмы гепатотоксичности разнообразны и включают прямое цитолитическое действие, индукцию оксидативного стресса, образование реактивных метаболитов, нарушение внутриклеточного кальциевого гомеостаза и запуск апоптоза или некроза гепатоцитов [1,2].

Ранняя и точная диагностика гепатотоксических состояний, особенно на доклинической стадии, остаётся сложной задачей. Традиционные биохимические маркеры (АЛТ, АСТ, ЩФ) часто повышаются уже при наличии выраженного повреждения. В связи с этим актуальным является поиск функциональных нагрузочных тестов, оценивающих резервные возможности печени и способных выявлять латентные нарушения [3-5].

Одним из таких перспективных маркеров является сорбитол — шестиатомный спирт, естественный метаболит, участвующий в пути полиолового обмена. В физиологических условиях сорбитол быстро метаболизируется в печени под действием сорбитолдегидрогеназы с образованием фруктозы. Скорость его элиминации из кровотока напрямую зависит от функциональной активности гепатоцитов. Нарушение печёночного кровотока, повреждение ферментативных систем или целостности клеточных мембран приводит к замедлению клиренса сорбитола, что может быть зафиксировано при проведении фармакокинетического исследования.

Целью данной работы явилось изучение влияния трёх наиболее характерных гепатотоксикантов с разными механизмами действия — тетрахлорметана, парацетамола и N-нитрозодиметиламина — на фармакокинетику элиминации сорбитола у крыс, а также оценка диагностической ценности «сорбитоловой пробы» для выявления различных типов гепатотоксичности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Работа выполнена на базе вивария кафедры фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ. Все манипуляции с животными проводились в строгом соответствии с принципами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов (Страсбург, 1986), Директивы 2010/63/EU Европейского парламента, а также правил GLP [6,7]. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом Университета.

В эксперименте использовали 48 половозрелых крыс линии Wistar (24 самца и 24 самки) массой 200–250 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария при контролируемой температуре (22±2°C), влажности (50–60%) и 12-часовом цикле свет/темнота. Доступ к воде и стандартному гранулированному корму был свободным.

Крысы были рандомизированы на 4 группы (n=12 в каждой, 6 самцов и 6 самок):

Контрольная группа: внутрибрюшинное (в/б) введение оливкового масла (носитель).

Группа CCl_4: однократное в/б введение тетрахлорметана в дозе 1 мл/кг в оливковом масле (1:1).

Группа парацетамола: однократное в/б введение парацетамола в дозе 750 мг/кг в тёплом физиологическом растворе.

Группа НДМА: однократное в/б введение N-нитрозодиметиламина в дозе 30 мг/кг в физиологическом растворе.

Дозы и способ введения были выбраны на основании литературных данных для индукции острого гепатотоксического эффекта в течение 24 часов [8-10].

Через 24 часа после введения гепатотоксикантов всем животным натощак вводили стерильный раствор сорбитола в дозе 500 мг/кг внутрибрюшинно. Забор крови (около 0,1 мл) из хвостовой вены осуществляли до введения сорбитола (0 мин) и через 30, 60, 120, 240, 360 и 480

минут после инъекции. Кровь центрифугировали для получения плазмы, которую замораживали при -20°C до анализа.

Концентрацию сорбитола в плазме определяли энзиматическим методом с использованием набора реагентов на основе сорбитолдегидрогеназы (SDH). Принцип метода основан на окислении сорбитола SDH в присутствии NAD^+ с образованием фруктозы и NADH. Увеличение оптической плотности NADH при 340 нм пропорционально концентрации сорбитола в пробе.

Для каждой временной точки рассчитывали среднюю арифметическую концентрацию сорбитола (M) и стандартную ошибку среднего (m). Строили индивидуальные и групповые фармакокинетические кривые «концентрация-время». Оценивали следующие фармакокинетические параметры: максимальную концентрацию (Cmax), время её достижения (Tmax), площадь под кривой от 0 до 480 мин ($AUC_{0–480}$) методом трапеций, период полувыведения ($T_{1/2}$) и клиренс (CL). Для сравнения параметров между группами использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Уровень статистической значимости принимали равным $p < 0,05$. Все расчёты проводили в программе STATISTICA 12.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В контрольной группе элиминация сорбитола происходила быстро: концентрация в плазме достигала пика (Cmax = 285 ± 15 мкг/мл) через 30 минут (Tmax), затем монотонно снижалась, приближаясь к базальному уровню к 360–480 минутам. Период полувыведения ($T_{1/2}$) составил 75±8 мин, $AUC_{0–480}$ = 45020±2500 мкг·мин/мл (таблица 1).

Таблица 1 – Основные фармакокинетические параметры элиминации сорбитола у крыс после интоксикации различными гепатотоксикантами (M ± m, n=12)

Параметр / Группа	Контроль	Тетрахлорметан (CCl_4)	Парацетамол	НДМА
Cmax, мкг/мл	285 ± 15	310 ± 22	295 ± 18	305 ± 20
Tmax, мин	30	30	30	30
$T_{1/2}$, мин	75±8	210 ± 25**	135 ± 12*	110 ± 10* (1-я фаза)
$AUC_{0–480}$, мкг·мин/мл	45020±2500	128540 ± 9800**	78500 ± 4200*	92500 ± 5500**
CL, мл/мин/кг	11,1 ± 0,6	3,9 ± 0,3**	6,4 ± 0,4*	5,4 ± 0,3**

*Примечание: * – p < 0,05 по сравнению с контролем; ** – p < 0,01 по сравнению с контролем.*

Интоксикация CCl_4 вызвала наиболее выраженные изменения фармакокинетики сорбитола. Cmax незначительно отличался от контроля, однако скорость элиминации была резко замедлена. Концентрация сорбитола оставалась высокой на протяжении всего периода наблюдения (480 мин). $T_{1/2}$ увеличился до 210±25 мин ($p<0,01$), а $AUC_{0–480}$ возросла почти в 3 раза (128540±9800 мкг·мин/мл, $p<0,001$). Это свидетельствует о глубоком угнетении метаболической функции печени, характерном для цитолитического некроза, индуцированного CCl_4.

Фармакокинетический профиль в этой группе показал умеренное нарушение. Элиминация сорбитола была замедлена, но менее выраженно, чем в группе CCl_4. Наблюдалось удлинение $T_{1/2}$ до 135±12 мин ($p<0,05$) и увеличение $AUC_{0–480}$ до 78500±4200 мкг·мин/мл ($p<0,01$). Кривая характеризовалась плавным спадом без вторичных подъёмов, что соответствует механизму токсичности парацетамола, связанному с истощением запасов глутатиона и некрозом центров долек.

Наиболее интересная и сложная динамика была отмечена в группе НДМА. После начального пика наблюдался спад концентрации сорбитола, однако после 240 минут регистрировался выраженный вторичный подъём уровня, который не отмечался в других группах. $T_{1/2}$, рассчитанный для первой фазы, составил 110±10 мин, но общая $AUC_{0–480}$ была высокой (92500±5500 мкг·мин/мл, $p<0,001$). Такой двухфазный профиль может объясняться нарушением экскреторной функции печени и кишечно-печёночной рециркуляции сорбитола на фоне токсического холангита, индуцированного НДМА.

Статистически значимых различий в фармакокинетических параметрах между самцами и самками в рамках одной экспериментальной группы выявлено не было ($p>0,05$).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что элиминация сорбитола из системного кровотока является высокочувствительным процессом, зависящим от функциональной целостности печени. Замедление клиренса сорбитола регистрировалось при всех типах индуцированного повреждения, что подтверждает его роль как неспецифического маркера снижения печёночной функции.

Важным аспектом является выявление специфических фармакокинетических паттернов для разных гепатотоксикантов. Наиболее драматичное увеличение AUC и $T_{1/2}$ под действием CCl_4 соответствует его известному механизму действия: метаболическая активация с образованием свободных радикалов трихлорметила, что приводит к пероксидации липидов мембран и массивному некрозу гепатоцитов. Это вызывает глобальное угнетение всех ферментативных систем, включая сорбитолдегидрогеназу.

Умеренное замедление элиминации при интоксикации парацетамолом согласуется с его зонально-специфичным действием на центр печёночных долек, где локализована цитохром P450 2E1, ответственный за образование токсичного метаболита N-ацетил-п-бензохинонимина. Повреждение преимущественно этой зоны может оставлять относительную сохранность перипортальных гепатоцитов, что объясняет менее выраженное, чем при действии CCl_4, нарушение метаболизма сорбитола.

Уникальный двухфазный профиль при интоксикации НДМА, вероятно, отражает не только гепатоцеллюлярное повреждение, но и вовлечение билиарного тракта. НДМА известен как холангиотоксичный агент, способный вызывать повреждение эпителия желчных протоков. Нарушение экскреции сорбитола в желчь и её последующая реабсорбция из кишечника могут лежать в основе наблюдаемого вторичного подъёма концентрации в плазме. Этот феномен указывает на то, что сорбитоловая проба может быть чувствительна не только к паренхиматозной, но и к холестатической форме гепатотоксичности.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Индуцированное гепатотоксикантами повреждение печени у крыс приводит к статистически значимому и дозозависимому замедлению элиминации экзогенного сорбитола, что проявляется увеличением периода полувыведения ($T_{1/2}$) и площади под фармакокинетической кривой (AUC).

Также нами отмечено, что характер нарушения фармакокинетики сорбитола обладает определённой специфичностью и отражает механизм действия гепатотоксиканта: цитолитический некроз (CCl_4) вызывает наиболее глубокое угнетение клиренса, некроз центров долек (парацетамол) — умеренное, а холангиотоксическое действие (НДМА) может приводить к сложному двухфазному профилю элиминации.

«Сорбитоловая проба» является перспективным, неинвазивным и высокоинформативным функциональным тестом для оценки состояния печени. Она позволяет выявлять не только явные, но и латентные формы гепатотоксичности, что имеет важное значение для доклинических исследований безопасности новых фармакологических субстанций и химических соединений.

Однако, для внедрения метода в широкую практику необходимы дальнейшие исследования по стандартизации доз сорбитола, определению референсных интервалов фармакокинетических параметров и валидации теста на разных видах сельскохозяйственных и домашних животных.

EFFECT OF HEPATOTOXICANTS OF DIFFERENT CHEMICAL GROUPS ON THE ELIMINATION OF SORBITOL

Ponamarev V.S.* – PhD in Veterinary Medicine, Associate Professor at the Department of Pharmacology and Toxicology (ORCID 0000-0002-6852-3110); **Andreeva N.L.** – Doctor of Biological Sciences, Professor, Department of Pharmacology and Toxicology

Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine

* psevdopyos@mail.ru

Acknowledgments: *The study was funded by the Russian Science Foundation under the research project No. 24-26-00005 (https://rscf.ru/project/ 24-26-00005/).*

ABSTRACT

Hepatotoxicants are chemical compounds capable of selectively damaging the liver, which can lead to impairment of its metabolic, detoxifying, and excretory functions. Currently, the search for reliable biomarkers for the early diagnosis of hepatotoxic conditions, especially latent ones, is a pressing issue. The aim of this study was to evaluate the effects of various modern hepatotoxicants on sorbitol elimination in laboratory rats. Representatives of different chemical classes were used as model hepatotoxicants: carbon tetrachloride (CCl_4) as a classic hepatotoxicant, paracetamol (acetaminophen) at a hepatotoxic dose, and the industrial toxicant N-nitrosodimethylamine (NDMA). Experiments were conducted on sexually mature male and female Wistar rats (n=48). Hepatotoxicity was induced by a single administration of toxicants at established doses. Twenty-four hours after intoxication, animals were administered sorbitol intraperitoneally at a dose of 500 mg/kg. Blood samples were collected to determine plasma sorbitol concentrations at 0, 30, 60, 120, 240, 360, and 480 minutes after administration. The results showed that all studied hepatotoxicants significantly delayed sorbitol elimination compared to the control group, but with different pharmacokinetic profiles. The most pronounced inhibition of sorbitol clearance was observed with CCl_4 intoxication, characterized by a prolonged half-life ($T_{1/2}$) and a high area under the concentration-time curve (AUC). Paracetamol intoxication resulted in a moderate delay in elimination, while NDMA caused a biphasic change in plasma sorbitol levels with a period of initial slow elimination followed by a secondary rise in concentration, probably related to impaired enterohepatic circulation.

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. 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 2025 г.
7. 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 2025 г.
8. 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: 29.11.2025)
9. 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:29.11.2025)
10. 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:29.11.2025).

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. Ponomarev, V. S. Compendium of methodological approaches to inducing hepatotoxicity in laboratory animals / V. S. Ponomarev, 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. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (Strasbourg, 18 March 1986). Available at: https://rm.coe.int/168007 a6a8. The link is active as of 27 October 2025.
7. 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 at: https://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:007 9:en:PDF. The link is active as of 27 October 2025.
8. Safety Data Sheet No. 7905: Trichloromethane / Chloroform D1 with TMS (0.03 vol.%) 99.8 Atom%D: revision date 22.04.2022. In accordance with GOST 30333-2007. 17 p. Access: https://www.carlroth.com/medias/SDB-7905-RU-RU.pdfcontext=bWFzdGVyfHNlY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wzNDk2MzN8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNlY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oMmMvaGEzLzkwNzAxMzEyMTY0MTQucGRmfDhhODczZTgwNGIyNmZkYTJkOGIwZjk4YmI2MmY2NjFiZWE2NWQxYjQxMDM5MzkwMWU5Y2JlODFmM2I0NDRlYWI (date of visit: November 29, 2025)
9. Safety Data Sheet No. 4218: Ethylenediamine ≥99.5%, for synthesis: revision date 04.01.2022. In accordance with GOST 30333-2007. 18 p. Access: https://www.carlroth.com/medias/SDB-4218-RU-RU.pdfcontext=bWFzdGVyfHNlY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wzNDc0NTB8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNlY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oN2QvaDc1LzkwNTcwNzg3Mzg5NzQucGRmfGFjN2Q0YjQ0Y2IxNDcyNmU5ZWJiNmZjYmE2MTJkODI0MGI5NzMwN2MxNmVkNjRiNjkzMWE5M2I1MmU3M2YyMmY (date (last visited: November 29, 2025)
10. Safety Data Sheet No. 3544: Phthalic anhydride ≥98%, for synthesis: revision date: August 1, 2022. In accordance with GOST 30333-2007. 16 p. Access: https://www.carlroth.com/medias/SDB-3544-RU-RU.pdfcontext=bWFzdGVyfHNlY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wzMTQ5Njh8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNlY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oOTcvaDdiLzkwODI5NjcyMjg0NDYucGRmfGQxZDdiYTI4MTZiZDg0OWVmZjczODRhMjhjNzhjNzBhNGZmN2E3YzI3ODNhN2MxY2M1ZDI4Y2I0NjNmMTMzNmM (date of visit: 29.11.2025)

УДК: 636:616.36:612.357
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.229

КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЕЖДУ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИМИ ПАРАМЕТРАМИ СОРБИТОЛА У КЛИНИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ И СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Понамарёв В.С.* – канд. ветеринар. наук, доц. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-6852-3110)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* psevdopyos@mail.ru

Ключевые слова: клиренс-тест, сорбитол, фармакокинетика, корреляционный анализ, гепатобилиарная система.

Key words: clearance test, sorbitol, pharmacokinetics, correlation analysis, hepatobiliary system.

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках научного проекта № 24-26-00005 (https://rscf.ru/project/ 24-26-00005/)

Поступила: 15.07.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Целью данного исследования явилось проведение сравнительного корреляционного анализа фармакокинетических параметров экзогенного сорбитола у клинически здоровых лабораторных крыс и крупного рогатого скота для оценки степени сходства или различия в его элиминации и распределении, что является фундаментом для обоснования (или опровержения) возможности создания межвидовых диагностических моделей. Корреляционный анализ является одним из ключевых методов в ветеринарной фармакологии, позволяющим оценить взаимосвязи между фармакокинетическими параметрами и функциональным состоянием органов у животных. В данном исследовании изучены корреляционные взаимозависимости между фармакокинетическими показателями экзогенного сорбитола у клинически здоровых лабораторных крыс и сельскохозяйственных животных (крупный рогатый скот). Нами был проведён анализ таких параметров, как общий плазменный клиренс, среднее время пребывания вещества в организме и объём распределения. Для статистической обработки использовались параметрический (коэффициент корреляции Пирсона) и непараметрический (коэффициент ранговой корреляции Спирмена) методы. Результаты показали отсутствие устойчивых корреляционных связей между видами, а также между самцами и самками, что свидетельствует о межвидовых и индивидуальных различиях в метаболизме сорбитола. Полученные данные подчеркивают необходимость учёта видовых особенностей при использовании сорбитола в качестве маркера для оценки функции гепатобилиарной системы. Для разработки универсальных диагностических моделей требуются дальнейшие исследования на более широком спектре видов животных.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Оценка функционального состояния печени у животных представляет собой одну из наиболее сложных и актуальных задач ветеринарной диагностики. Печень, являясь центральным органом метаболизма, детоксикации и синтеза, подвержена широкому спектру патологий, раннее выявление которых критически важно для прогноза и успешного лечения. Традиционные биохимические показатели крови не всегда обладают достаточной чувствительностью и специфичностью на ранних стадиях поражения, что стимулирует поиск новых, более точных методов [1-3].

В этом контексте значительный интерес представляют фармакокинетические тесты, основанные на клиренсе экзогенных веществ [4,5]. Эти тесты позволяют оценить интегральную функцию органа по скорости элиминации введенного соединения. Одним из таких перспективных веществ является сорбитол – шестиатомный спирт, который практически не метаболизируется в организме млекопитающих и выводится преимущественно в неизмененном виде почками, а его клиренс косвенно отражает состояние печеночного кровотока и целостность гепатоцитов.

Использование сорбитола в качестве диагностического маркера у человека хорошо изучено, однако его применение в ветеринарии, особенно в сравнительном аспекте для разных видов животных, остается недостаточно исследованным. Физиологические, анатомические и метаболические различия между видами могут существенно влиять на фармакокинетику сорбитола, а, следовательно, и на интерпретацию результатов клиренс-теста [6-10].

Таким образом, ключевым вопросом становится возможность экстраполяции данных, полученных на одном виде животных, на другие. Корреляционный анализ между основными фармакокинетическими параметрами (концентрацией, клиренсом, объемом распределения, временем пребывания) у разных видов может выявить универсальные закономерности или, напротив, подчеркнуть видовую специфичность.

Целью данного исследования явилось проведение сравнительного корреляционного анализа фармакокинетических параметров экзогенного сорбитола у клинически здоровых лабораторных крыс и крупного рогатого скота для оценки степени сходства или различия в его элиминации и распределении, что является фундаментом для обоснования (или опровержения) возможности создания межвидовых диагностических моделей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В исследовании использовались две группы клинически здоровых животных: 1) нелинейные лабораторные крысы (n=40, 20 самцов и 20 самок) массой 200±10 г, возрастом 3 месяца; 2) голштинизированный крупный рогатый скот (n=24, 12 самцов и 12 самок) возрастом 1,5±0,3 года. Все животные содержались в стандартных виварийных или фермерских условиях с идентичным сбалансированным рационом и свободным доступом к воде [11-13]. За 12 часов до эксперимента кормление прекращалось.

Сорбитол в виде стерильного 10% изотонического раствора вводился внутривенно болюсно в дозе 10 мг/кг массы тела. Забор крови осуществлялся из хвостовой вены у крыс[14] и яремной вены у КРС в следующие временные точки после введения: 0,5; 1; 2; 4; 6; 8; 12 и 24 часа. Пробы крови центрифугировали для получения плазмы, которую замораживали при -20°C до анализа.

Концентрация сорбитола в плазме крови определялась энзиматическим колориметрическим методом с использованием коммерческого набора «Sorbitol Assay Kit» (Sigma-Aldrich, США). Метод основан на последовательном окислении сорбитола сорбитолдегидрогеназой в присутствии NAD+ с образованием фруктозы и NADH. Интенсивность образовавшегося NADH, пропорциональная концентрации сорбитола, измерялась спектрофотометрически при длине волны 340 нм. Чувствительность метода составляла 0,1 мг/дл.

На основе полученных концентрационно-временных кривых рассчитывались следующие параметры:

Площадь под кривой «концентрация-время» ($AUC_{0–\infty}$). Определялась методом трапеций от нуля до последней измеренной точки ($AUC_{0–t}$), с экстраполяцией до бесконечности путем прибавления значения $Ct/\lambda z$, где Ct – последняя измеренная концентрация, λz – константа скорости терминальной элиминации, рассчитанная методом линейной регрессии логарифма концентрации от времени на терминальном участке кривой.

Общий плазменный клиренс (Cl). Рассчитывался по формуле: Cl = Доза / $AUC_{0–\infty}$. Данный параметр отражает суммарную эффективность процессов, ответственных за элиминацию сорбитола из организма (преимущественно почечную фильтрацию и печеночный клиренс).

Объем распределения в устойчивом состоянии (Vd_{ss}). Рассчитывался по формуле: $Vd_{ss} = Cl * MRT$, где MRT – среднее время пребывания. Этот параметр характеризует условный объем жидкости, необходимый для равномерного распределения экзогенного вещества, обнаруживаемого в плазме крови.

Среднее время пребывания (MRT). Определялось как отношение площади под кривой $AUMC_{0–\infty}$ к площади под кривой $AUC_{0–\infty}$: $MRT = AUMC_{0–\infty} / AUC_{0–\infty}$. AUMC рассчитывалась аналогично AUC, но с учетом произведения концентрации на время в каждой точке.

Для оценки взаимосвязей между рассчитанными фармакокинетическими параметрами внутри каждой группы и для сравнения между видами применялись два метода корреляционного анализа.

Коэффициент корреляции Пирсона (r). Использовался для оценки степени линейной связи между двумя количественными переменными, распределение которых не противоречило нормальному. Рассчитывался по формуле:

$$r = \Sigma((x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})) / \sqrt{(\Sigma(x_i - \bar{x})^2 * \Sigma(y_i - \bar{y})^2)},$$

где x_i и y_i – индивидуальные значения двух параметров, $\bar{x}$ и $\bar{y}$ – их средние арифметические. Значение r варьирует от -1 (полная обратная линейная связь) до +1 (полная прямая линейная связь), при 0 – линейная связь отсутствует.

Коэффициент ранговой корреляции Спирмена (ρ). Применялся как непараметрический аналог для данных с отклонением от нормальности или для оценки монотонной (не обязательно линейной) связи. Значения каждого параметра ранжировались отдельно, после чего коэффициент рассчитывался по формуле:

$$*\rho = 1 - (6 * \Sigma d_i^2) / (n * (n^2 - 1))*,$$

где d_i – разность рангов для каждой пары наблюдений, n – количество пар. Интерпретация значений ρ аналогична интерпретации r.

Статистическая значимость коэффициентов корреляции оценивалась при уровне $p < 0,05$. Сравнение параметров между самцами и самками внутри вида проводилось с помощью U-критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты корреляционного анализа между ключевыми фармакокинетическими параметрами сорбитола представлены в таблицах 1 и 2 для коэффициентов Пирсона и Спирмена, соответственно.

Анализ данных выявил несколько ключевых закономерностей. Ожидаемая сильная отрицательная корреляция между AUC и Cl была подтверждена у всех групп животных (значения r и ρ от -0,79 до -0,89).

Проведенный корреляционный анализ выявил статистически значимую взаимосвязь между важными фармакокинетическими параметрами — объемом распределения (Vd_{ss}) и средним временем пребывания (MRT). Наличие устойчивой положительной корреляции средней силы (коэффициенты Пирсона в диапазоне от +0,42 до +0,50) у самцов крыс и у крупного рогатого скота обоих полов указывает на то, что увеличение объема распределения вещества в организме закономерно сопряжено с увеличением его среднего времени циркуляции. Это наблюдение имеет важное теоретическое значение,

так как подтверждает фундаментальную фармакокинетическую закономерность, характерную, в том числе, и для экзогенного сорбитола: чем больше Vd_{ss}, характеризующий степень распределения лекарственного средства за пределы плазмы, тем дольше длится его элиминация. Полученные данные демонстрируют надежность и воспроизводимость выявленной зависимости, что подтверждается согласованностью результатов, полученных разными статистическими методами. Статистическая значимость ($p<0,05$) коэффициентов Пирсона доказывает линейную природу данной связи. При этом схожая положительная тенденция, выявленная с помощью непараметрического коэффициента Спирмена, свидетельствует о том, что зависимость является монотонной и устойчивой, не зависящей исключительно от строгого предположения о нормальности распределения данных.

Таблица 1 – Коэффициенты корреляции Пирсона (r) между фармакокинетическими параметрами сорбитола у крыс и КРС

Сравниваемые параметры	Лабораторные крысы (♂)	Лабораторные крысы (♀)	КРС (♂)	КРС (♀)
Cl и Vd_{ss}	+0,18	+0,05	-0,22	-0,10
Cl и MRT	-0,31	-0,25	-0,45*	-0,38
Vd_{ss} и MRT	+0,42*	+0,28	+0,50*	+0,41*
AUC и Cl	-0,85*	-0,88*	-0,79*	-0,82*
Конц. (2ч) и MRT	+0,15	+0,22	-0,12	+0,08

**Примечание: корреляция выше незначительной (r≥0,4). Cl – клиренс, Vd_{ss} – объем распределения, MRT – среднее время пребывания, AUC – площадь под кривой.*

Таблица 2 – Коэффициенты ранговой корреляции Спирмена (ρ) между фармакокинетическими параметрами сорбитола у крыс и КРС

Сравниваемые параметры	Лабораторные крысы (♂)	Лабораторные крысы (♀)	КРС (♂)	КРС (♀)
Cl и Vd_{ss}	+0,20	+0,08	-0,19	-0,05
Cl и MRT	-0,29	-0,27	-0,41*	-0,35
Vd_{ss} и MRT	+0,45*	+0,31	+0,48*	+0,39
AUC и Cl	-0,87*	-0,89*	-0,81*	-0,84*
Конц. (2ч) и MRT	+0,18	+0,25	-0,10	+0,11

*Примечание: корреляция выше незначительной (ρ ≥0,4).

Между клиренсом (Cl) и временем пребывания (MRT) прослеживалась слабая и умеренная отрицательная корреляция ($r = -0,45$; $\rho = 0,41$), которая оценивалась как «выше незначительной» только у самцов КРС. Отсутствие подобной устойчивой отрицательной корреляции в других изученных группах животных (например, у самок КРС или у крыс) подчеркивает, что данная взаимосвязь не является универсальной и может модулироваться видовыми и половыми особенностями фармакокинетики.

Отсутствие устойчивых и значимых корреляций между остальными параметрами свидетельствует о невозможности создания универсальной диагностической модели на основе клиренса сорбитола, применимой к разным видам животных.

Сравнение корреляционных взаимозависимостей между самцами и самками внутри одного вида не выявило выражен-

ных, статистически подтвержденных различий. Единичные случаи значимости (например, для пары Cl-MRT у самцов, но не самок КРС) носят, вероятно, случайный характер на фоне общей вариабельности данных и требуют проверки на более крупных выборках.

Таким образом, полученные матрицы корреляций демонстрируют высокую специфичность фармакокинетического профиля сорбитола для каждого изученного вида. В то же время специфические взаимосвязи, которые могли бы лечь в основу прогностической модели, либо отсутствуют, либо кардинально различаются.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Основной вывод проведенной работы заключается в принципиальной невозможности прямого экстраполирования фармакокинетических нормативов между различными видами животных. Полученные нами данные наглядно демонстрируют, что ключевые параметры, такие как объем распределения, клиренс и время пребывания лекарственного средства в организме, могут существенно различаться не только между отдаленными видами (например, грызунами и жвачными), но и в зависимости от пола внутри одного вида. Это означает, что диагностическая методология, корректно работающая на одной биологической модели, может давать систематические ошибки при применении к другой, что ставит под сомнение валидность упрощенного межвидового переноса любых тест-систем, основанных на кинетических принципах.

Следовательно, разработка и валидация подобных диагностических инструментов требуют обязательного учета видовой специфичности. Практическое применение фармакокинетики в ветеринарной диагностике должно базироваться не на усредненных или заимствованных показателях, а на строго определенных, видоспецифичных референтных интервалах. Эти нормативы могут быть установлены только в ходе тщательных исследований на репрезентативных выборках клинически здоровых животных целевого вида, с учетом возраста, пола и физиологического статуса.

CORRELATION INDICATORS BETWEEN THE PHARMACOKINETIC PARAMETERS OF SORBITOL IN CLINICALLY HEALTHY LABORATORY AND AGRICULTURAL ANIMALS

Ponamarev V.S.* – PhD in Veterinary Medicine, Associate Professor at the Department of Pharmacology and Toxicology (ORCID 0000-0002-6852-3110)

Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine

* psevdopyos@mail.ru

Acknowledgments: *The study was funded by the Russian Science Foundation under the research project No. 24-26-00005 (https://rscf.ru/project/ 24-26-00005/).*

ABSTRACT

The aim of this study was to conduct a comparative correlation analysis of the pharmacokinetic parameters of exogenous sorbitol in clinically healthy laboratory rats and cattle to assess the degree of similarity or difference in its elimination and distribution, which forms the basis for substantiating (or refuting) the possibility of creating cross-species diagnostic models. Correlation analysis is a key method in veterinary pharmacology, allowing for the evaluation of relationships between pharmacokinetic parameters and organ function in animals. This study examined the correlations between the pharmacokinetic parameters of exogenous sorbitol in clinically healthy laboratory rats and farm animals (cattle). Sorbitol plasma concentration, total plasma clearance, mean residence time, and volume of distribution were analyzed. Parametric (Pearson correlation coefficient) and nonparametric (Spearman rank correlation coefficient) methods were used for statistical analysis. The results showed no consistent correlations between species or between males and females, indicating significant interspecies and individual differences in sorbitol metabolism. These data highlight the need to consider species-specific characteristics when using sorbitol as a marker for assessing

hepatobiliary function. Further research across a wider range of animal species is required to develop universal diagnostic models. Thus, this study makes a significant contribution to understanding the principles of species-specific pharmacokinetics and serves as an important caution against the simplistic cross-species transfer of diagnostic methods. Its findings provide the basis for a more balanced, differentiated, and, consequently, more effective approach to assessing hepatobiliary function in animals of various species in clinical and scientific veterinary practice.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Гавриш, В. Г. Справочник ветеринарного врача: Лабораторная диагностика и биохимия животных / В. Г. Гавриш, И. И. Калюжный. — Ростов-на-Дону: Феникс, 2019. — 380 с. — ISBN 978-5-222-32145-6.
2. Трошин, А. Н. Оценка функционального состояния печени у собак с использованием бромсульфалеинового теста / А.Н. Трошин, М. В. Семенова // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. — 2020. — № 4. —С. 35-38.
3. Center, S. A. Liver Function Tests in Small Animal Practice / S. A. Center // The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. — 2023. — Vol. 53, № 1. Международный вестник ветеринарии, № 3, 2025 г. 553 — P. 93-128. — DOI: 10.1016/j.cvsm.2022.07.008.
4. Gori, E. Evaluation of ammonia tolerance test for diagnosis of hepatic encephalopathy in dogs with portosystemic shunt / E. Gori, M. Lippi, S. Pierini et al. // Journal of Veterinary Internal Medicine. — 2019. — Vol. 33, № 2. — P. 1682-1689. — DOI: 10.1111/jvim.15524.
5. Ibrahim, W. H. Current status of future directions of hepatic function assessment in critical illness / W. H. Ibrahim, A. M. Al Hail, R. R. Pathan // Journal of Veterinary Emergency and Critical Care. — 2021. — Vol. 31, № 4. — P. 435-448. — DOI:10.1111/vec.13085.
6. Kovalkovičová, N. Dynamic liver function tests in dogs: A review / N. Kovalkovičová, J. Čobanová, I. Šutiaková // Acta Veterinaria Brno. — 2018. — Vol. 87, № 2. — P. 205-214. — DOI: 10.2754/avb201887020205.
7. Lisciandro, S. C. Use of the liver function test LiMAx in canine liver disease / S. C. Lisciandro, M. Hopper // Journal of Small Animal Practice. — 2021. — Vol. 62, № 6. — P. 449-455. — DOI: 10.1111/jsap.13312.
8. Mizuno, T. Ammonia tolerance test in dogs with portosystemic shunt / T. Mizuno, K. Hiraoka, K. Uchida // Journal of Veterinary Medical Science. — 2017. — Vol. 79, № 9. — P. 1539-1543. — DOI: 10.1292/jvms.17-0275.
9. Nelson, N. C. Comparison of fasting and postprandial plasma ammonia concentrations in dogs with and without hepatic disease / N. C. Nelson, C. G. Couto, C. E. Raleigh // Journal of Veterinary Internal Medicine. — 2016. — Vol. 30, № 3. — P. 825-831. — DOI: 10.1111/jvim.13936.
10. Panti, A. The use of indocyanine green clearance testing to evaluate liver disease in dogs / A. Panti, C. R. Lamb, A. J. Caine // The Veterinary Journal. — 2020. — Vol. 256. — P. 105434. — DOI: 10.1016/j.tvjl.2020.105434.
11. СП (Санитарные правила) № 2.2.1.3218-14 от 29 августа 2014 г. «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (виварием)».
12. РД-АПК № 3.10.07.02-09 от 01 декабря 2009 г. «Методические рекомендации по содержанию лабораторных животных в виварием научно-исследовательских институтов и учебных заведений».
13. Крупный рогатый скот. Содержание, кормление, болезни их диагностика и лечение: учебное пособие / А. Ф. Кузнецов, И. Д. Алемайкин, Г. М. Андреев [и др.]. – Санкт-Петербург: Издательство "Лань", 2007. – 624 с. – (Учебники для вузов. Специальная литература). – ISBN 5 -8114-0678-9.
14. Душенина, О. А. Анализ методов взятия крови у экспериментальных крыс / О. А. Душенина, Л. Ю. Карпенко, С. В. Ва-

сильева // Ветеринария Кубани. – 2022. – № 6. – С. 21-24. – DOI 10.33861/2071-8020 -2022-6-21-24.

REFERENCES

1. Gavrish, V. G. Veterinarian's Handbook: Laboratory Diagnostics and Biochemistry of Animals / V. G. Gavrish, I. I. Kalyuzhny. - Rostov-on-Don: Phoenix, 2019. - 380 p. - ISBN 978-5-222-32145-6.
2. Troshin, A. N. Evaluation of the Functional State of the Liver in Dogs Using the Bromsulfalein Test / A. N. Troshin, M. V. Semenova // Russian Veterinary Journal. Farm Animals. - 2020. - No. 4. - P. 35-38.
3. Center, S. A. Liver Function Tests in Small Animal Practice / S. A. Center // The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. - 2023. - Vol. 53, No. 1. International Bulletin of Veterinary Medicine, No. 3, 2025 553 - P. 93-128. — DOI: 10.1016/j.cvsm.2022.07.008.
4. Gori, E. Evaluation of ammonia tolerance test for diagnosis of hepatic encephalopathy in dogs with portosystemic shunt / E. Gori, M. Lippi, S. Pierini et al. // Journal of Veterinary Internal Medicine. — 2019. — Vol. 33, No. 2. - P. 1682-1689. — DOI: 10.1111/ jvim.15524.
5. Ibrahim, W. H. Current status of future directions of hepatic function assessment in critical illness / W. H. Ibrahim, A. M. Al Hail, R. R. Pathan // Journal of Veterinary Emergency and Critical Care. — 2021. — Vol. 31, No. 4. - P. 435-448. — DOI:10.1111/vec.13085.
6. Kovalkovičová, N. Dynamic liver function tests in dogs: A review / N. Kovalkovičová, J. Čobanová, I. Šutiaková // Acta Veterinaria Brno. — 2018. — Vol. 87, No. 2. - P. 205-214. — DOI: 10.2754/ avb201887020205.
7. Lisciandro, S. C. Use of the liver function test LiMAx in canine liver disease / S. C. Lisciandro, M. Hopper // Journal of Small Animal Practice. — 2021. — Vol. 62, No. 6. - P. 449-455. — DOI: 10.1111/jsap.13312.
8. Mizuno, T. Ammonia tolerance test in dogs with portosystemic shunt / T. Mizuno, K. Hiraoka, K. Uchida // Journal of Veterinary Medical Science. — 2017. — Vol. 79, No. 9. - P. 1539-1543. — DOI: 10.1292/ jvms.17-0275.
9. Nelson, N. C. Comparison of fasting and postprandial plasma ammonia concentrations in dogs with and without hepatic disease / N. C. Nelson, C. G. Couto, C. E. Raleigh // Journal of Veterinary Internal Medicine. — 2016. — Vol. 30, No. 3. - P. 825-831. — DOI: 10.1111/jvim.13936.
10. Panti, A. The use of indocyanine green clearance testing to evaluate liver disease in dogs / A. Panti, C. R. Lamb, A. J. Caine // The Veterinary Journal. — 2020. — Vol. 256. — P. 105434. — DOI: 10.1016/ j.tvjl.2020.105434.
11. SP (Sanitary Rules) No. 2.2.1.3218-14 of August 29, 2014, "Sanitary and Epidemiological Requirements for the Design, Equipment, and Maintenance of Experimental Biological Clinics (Vivariums)".
12. RD-APK No. 3.10.07.02-09 of December 1, 2009, "Methodological Recommendations for the Maintenance of Laboratory Animals in Vivariums of Research Institutes and Educational Institutions".
13. Cattle. Maintenance, feeding, diseases, their diagnosis and treatment: a textbook / A. F. Kuznetsov, I. D. Alemaikin, G. M. Andreev [et al.]. - St. Petersburg: Lan Publishing House, 2007. - 624 p. - (Textbooks for universities. Specialized literature). - ISBN 5 -8114-0678-9.
14. Dushenina, O. A. Analysis of methods for collecting blood from experimental rats / O. A. Dushenina, L. Yu. Karpenko, S. V. Vasilyeva // Veterinary Science of Kuban. - 2022. - No. 6. - pp. 21-24. - DOI 10.33861/2071-8020-2022-6-21-24.

ЗООГИГИЕНА, САНИТАРИЯ, КОРМЛЕНИЕ

УДК: 637.52:535.36
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2025.4.236

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКА, ВОДЫ И ЖИРА В МЯСЕ ПУШНЫХ ЗВЕРЕЙ МЕТОДОМ ИНФРАКРАСНОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ В БЛИЖНЕМ ДИАПАЗОНЕ

Калюжная Т.В.* – канд. ветеринар. наук, доц., доц. каф. ветеринарно-санитарной экспертизы, (ORCID 0000-0002-8682-1840); **Олонцев В.А.** – асс. каф. кормления и разведения животных (ORCID 0009-0000-2851-8192); **Орлов С.И. –** студ. 2 курса факультета ветеринарной медицины

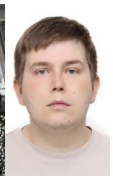
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*tomagafk087@mail.ru

Ключевые слова: пушные звери, хорек, норка, белковый гидролизат, массовая доля белка, массовая доля жира, массовая доля воды, инфракрасная спектрометрия в ближнем диапазоне.

Keywords: fur-bearing animals, ferret, mink, protein hydrolysate, mass fraction of protein, mass fraction of fat, mass fraction of water, infrared spectrometry in the near range.

Поступила: 27.10.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025



РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты определения содержания белка, жира и воды в мышечной ткани пушных зверей клеточного содержания – хорька и норки – в контексте их потенциального использования в качестве сырья для производства таких кормовых продуктов как белковый гидролизат. Целью работы являлась сравнительная оценка химического состава и определение возможности применения неразрушающего экспресс-метода инфракрасной спектрометрии в ближнем диапазоне для прогнозирования массовой доли белка, массовой доли жира и массовой доли воды в мясе пушных зверей. Проведен химический анализ проб мышечной ткани пушных зверей по общепринятым методикам. Установлены достоверные межвидовые различия по показателям массовые доли воды, белка и жира. Наибольшая массовая доля белка зафиксирована в мясе хорька (21,5±0,8%), тогда как мясо норки характеризовалось максимальной массовой долей жира (12,8±1,2%). На основе данных химического анализа с использованием NIRS-спектрометра с диффузным отражением были разработаны калибровочные модели для быстрого определения этих показателей. Валидация моделей показала высокую точность прогноза: коэффициент детерминации для массовой доли белка составил 0,98, для массовой доли жира – 0,99, для массовой доли воды – 0,97. Полученные данные свиде-

тельствуют о высокой питательной ценности и перспективности использования продуктов убоя пушных зверей в кормовой промышленности для производства белковых гидролизатов. Метод инфракрасной спектрометрии в ближнем диапазоне рекомендован для внедрения в систему оперативного контроля качества сырья на предприятиях по производству кормовых продуктов.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Современная кормовая промышленность находится в постоянном поиске новых, экономически эффективных и питательных источников животного белка и жира [1]. Растущий спрос на такие кормовые продукты как белковый гидролизат, актуализирует задачу по рациональному использованию ресурсов [2, 3, 4]. Одним из таких перспективных, но недостаточно изученных источников являются побочные продукты убоя пушных зверей - хорька и норки. Ежегодно в звероводческих хозяйствах образуются значительные объемы продуктов убоя, не используемых в меховом производстве, которые могут быть переработаны в высококачественные кормовые продукты [5, 6, 7].

Известно, что мясо плотоядных животных обладает высокой биологической ценностью, являясь источником полноценного белка, эссенциальных аминокислот, жирных кислот и микроэлементов [8, 9]. Однако традиционные методы оценки их химического состава (метод Кьельдаля для определения азота, метод Сокслета для экстракции жира, высушивание до постоянной массы для влаги) являются трудоемкими, требуют значительных временных затрат и использования химических реагентов. В этой связи внедрение экспресс-методов, позволяющих в режиме реального времени анализировать сырье, представляется крайне актуальным для оптимизации технологических процессов.

Одним из наиболее прогрессивных методов является инфракрасная спектрометрия в ближнем диапазоне (Near-Infrared Spectroscopy, NIRS). Данная технология основана на поглощении электромагнитного излучения в диапазоне 780 –2500 нм функциональными группами органических молекул (O-H, N-H, C-H), что позволяет косвенно, но с высокой точностью определять содержание основных макронутриентов. Метод не требует пробоподготовки, неразрушающий, экологически безопасный и позволяет анализировать несколько показателей одновременно [10].

Целью работы являлась сравнительная оценка химического состава и определение возможности применения неразрушающего экспресс-метода инфракрасной спектрометрии в ближнем диапазоне для прогнозирования массовой доли белка, массовой доли жира и массовой доли воды в мясе пушных зверей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Экспериментальную работу осуществляли в 2025 году на базе учебно-исследовательского центра экспертизы пищевых продуктов и кормов для животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины». Продукты убоя были получены из зверохозяйства «Мермерины». Для исследования были отобраны пробы мышечной ткани (бедренная часть) от половозрелых особей хорька (*Mustela putorius*, n=50) и норки (*Neovison vison*, n=50).

Исследования проводили поэтапно. На первом этапе определяли массовые доли белка, жира и воды референтными методами. Так, массовую долю воды определяли методом высушивания навески до постоянной массы в сушильном шкафу. Массовую долю белка устанавливали методом Кьельдаля путем измерения общего количества азота с последующим пересчетом на белок с использованием установленного в нормативных документах коэффициента. Массовую долю жира определяли методом экстракции в аппарате Сокслета с использованием органического растворителя – петролейного эфира. Все анализы проводились в трехкратной повторности.

На втором этапе регистрировали ИК-

спектры проб мяса с помощью инфракрасного анализатора «ИнфраЛЮМ ФТ-12» (ГК «ЛЮМЕКС»). Для этого гомогенизированные пробы помещали в стандартные кюветы (толщина слоя 18 мм). Анализ каждого образца проводили дважды.

Для создания калибровочных моделей использовали метод частичных наименьших квадратов (PLSR). Совокупность из 100 проб была случайным образом разделена на калибровочную (n=60) и валидационную (n=40) выборки. Качество моделей оценивалось по коэффициенту детерминации (R^{2sec}) и критерию кросс-валидации (SECV), стандартной ошибке калибровки (SEC) и коэффициенту многомерной регрессии (R^{2secv}), а также по критерию F для проверки адекватности модели.

Статистическая обработка данных референтных методов проводилась с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим тестом Тьюки для множественных сравнений. Различия считались статистически значимыми при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты химического анализа мышечной ткани представлены в таблице 1. Статистический анализ выявил наличие достоверных ($p<0,05$) межвидовых различий по всем исследуемым показателям.

Таблица 1 – Химический состав мышечной ткани хорька и норки (M±m, n=50, %)

Вид животного	Массовая доля воды	Массовая доля белка	Массовая доля жира	Массовая доля золы
Хорек	$70,2 \pm 1,2^{b}$	$21,5 \pm 0,8^{c}$	$6,5 \pm 0,9^{a}$	$1,3 \pm 0,1^{a}$
Норка	$64,8 \pm 1,8^{a}$	$19,2 \pm 0,6^{a}$	$12,8 \pm 1,2^{c}$	$1,1 \pm 0,1^{b}$

Примечание: в пределах одного столбца значения с разными буквенными индексами достоверно различаются ($p<0,05$).

Таблица 2 – Параметры качества калибровочных моделей, разработанных методом PLSR

Анализируемый показатель	R^2 SEC	SEC, %	R^2 SECV	SECV, %	F
Массовая доля жира	0,993556	0,046215	0,991798	0,046487	1215,10855
Массовая доля белка	0,986133	0,039589	0,984375	0,042309	1205,11127
Массовая доля воды	0,971572	0,025028	0,969814	0,027748	1201,10183

Наибольшая массовая доля белка была обнаружена в мышечной ткани хорька (21,5±0,8%), что достоверно выше, чем у норки (19,2±0,6%). Высокое содержание протеина делает мясо хорька особенно ценным сырьем для производства протеиновых концентратов. Напротив, наименьшая массовая доля жира отмечена у хорька (6,5±0,9%), тогда как мясо норки характеризовалось самым высоким содержанием липидов (12,8±1,2%). Выявленные различия, вероятно, связаны с видовыми особенностями метаболизма, сезонными адаптациями к холоду (у норки) и мышечной активностью.

Массовая доля воды находилась в обратной корреляционной зависимости с содержанием жира ($r = -0,89$), что является типичным для мышечной ткани животных. Наибольшее содержание влаги отмечено у хорька (70,2±1,2%), наименьшее – у норки (64,8±1,8%).

На основе данных референтного анализа и снятых ИК-спектров были постро-

ены калибровочные модели для прогнозирования массовой доли белка, жира и воды.

Как видно из таблицы 2, все разработанные модели показали высокую прогностическую способность. Коэффициенты детерминации (R^{2sec}) превышали значение 0,97 для всех трех показателей. Кроме того, анализируя рассчитанные значения коэффициентов многомерной регрессии для каждого показателя R^{2sec} и R^{2secv} установили, что их значение было близко к 1. Это характеризует хорошую предсказательную способность построенной калибровочной модели. Кроме того, сравнительный анализ значений SEC и SECV выявил их незначительную вариацию, что служит статистическим подтверждением устойчивости и адекватности полученных калибровочных моделей.

Полученные значения коэффициентов для всех моделей, свидетельствует об их пригодности для использования в целях промышленного контроля, включая сортировку сырья [5]. Высокая точность определения жира методом NIRS объясняется сильными сигналами от C-H групп, которые хорошо детектируются в ближнем ИК-диапазоне. Графики зависимости предсказанных NIRS-методом значений от данных, полученных референтными методами, демонстрируют тесную линейную связь и незначительное смещение, что подтверждает адекватность и точность калибровок (Рисунок 1).

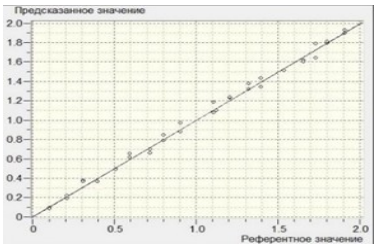


Рисунок 1 – Пример графика «предсказанные и референтные значения» для массовой доли белка в мясе пушных зверей.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведенное исследование позволило получить новые данные о содержание белка, воды и жира в мясе таких пушных зверей, как хорек и норка. Установлены достоверные межвидовые различия по основным нутриентам: мясо хорька является наиболее богатым источником белка, мясо норки – жира. Высокое содержание протеина и жира подтверждает целесообразность использования мяса этих животных после съемки шкурок в качестве ценного кормового сырья для производства таких кормовых продуктов как белковый гидролизат.

Впервые для данного вида сырья доказана эффективность применения метода инфракрасной спектрометрии в ближнем диапазоне для оперативного контроля качества. Разработанные калибровочные модели позволяют с высокой точностью и в течение нескольких минут определять массовую долю белка, массовую долю жира и массовую долю воды в гомогенизированных пробах, что исключает необходимость проведения длительных химических анализов.

Внедрение NIRS-технологии на предприятиях, перерабатывающих побочные продукты звероводства, позволит осуществлять входной контроль сырья и стандартизировать выпускаемую продукцию по ключевым показателям.

DETERMINATION OF PROTEIN, WATER, AND FAT CONTENT IN FUR-BEARING ANIMAL MEAT BY NEAR-INFRARED SPECTROMETRY

Kalyuzhnaya T.V.* – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Veterinary and Sanitary Expertise (ORCHID 0000-0002-8682-1840); **Olontsev V. A.** – Assistant at the Department of Animal Nutrition and Breeding (ORCID 0009-0000-2851-8192); **Orlov S. I.** – 2nd year student at the Faculty of Veterinary Medicine.

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*tomagafk087@mail.ru

ABSTRACT

The article presents the results of determining the protein, fat, and water content in the muscle tissue of caged fur–bearing animals – ferrets and minks - in the context of their potential use as raw materials for the production of such feed products as protein hydrolysate. The aim of the work was to compare the chemical composition and determine the possibility of using a non-destructive express method of infrared spectrometry in the near range to predict the mass fraction of protein, mass fraction of fat and mass fraction of water in the meat of fur-bearing animals. Chemical analysis of muscle tissue samples of fur-bearing animals was carried out according to generally accepted methods. Significant interspecific differences in the mass fractions of water, protein, and fat have been established. The largest mass fraction of protein was recorded in ferret meat (21.5±0.8%), while mink meat was characterized by the maximum mass fraction of fat (12.8±1.2%). Based on chemical analysis data using a diffuse reflection NIRS spectrometer, calibration models were developed to quickly determine these indicators. Validation of the models showed a high accuracy of the forecast: the coefficient of determination for the mass fraction of protein was 0.98, for the mass fraction of fat – 0.99, for the mass fraction of water – 0.97. The data obtained indicate the high nutritional value and promising use of products from the slaughter of fur-bearing animals in the feed industry for the production of protein hydrolysates. The method of infrared spectrometry in the near range is recommended for implementation in the system of operational quality control of raw materials at enterprises producing feed products.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Полякова, А. С. Возможность использования тушек пушных зверей в корм животным и птицам / А. С. Полякова // Студенческая наука - взгляд в будущее: Материалы XIX Всероссийской студенческой научной конференции, Красноярск, 27–29 февраля 2024 года. – Красноярск: Красноярский государственный аграрный университет, 2024. – С. 200-204.

2.Балакирев, Н. А. Содержание, кормление и болезни клеточных пушных зверей / Н. А. Балакирев, Д. Н. Перельдик, И. А. Домский. – Санкт-Петербург: Издательство «Лань», 2013. – 272 с.

3.Белковые гидролизаты / А. А. Дельцов, В. М. Бачинская, Д. В. Гончар [и др.]. – Москва: Издательство «Научная библиотека», 2024. – 160 с. DOI 10.36871/978-5-907823-51-8.

4.Абрамов, П. Н. Гепатотропные эффекты при применении белкового гидролизата / П. Н. Абрамов // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии, биотехнологии и экспертизы сырья и продуктов животного происхождения: Сборник трудов 3-й Научно-практической конференции, Москва, 28 июня 2024 года. – Москва: ООО «Издательство «Сельскохозяйственные Технологии», 2024. – С. 104-105.

5.Слесаренко, Н. А. Морфологическое обоснование эффективности применения белкового гидролизата в пушном звероводстве / Н. А. Слесаренко, А. М. Воронин // Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. – 2019. – № 4. – С. 39-47.

6.Эффективность белкового гидролизата из мышечной ткани норок при диспепсии телят молозивного периода / А. И. Албулов, М. А. Фролова, Р. В. Рогов [и др.] // Актуальные проблемы лечения и профилактики болезней молодняка : материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины", Витебск, 04–06 ноября 2024 года. – Витебск: Витебская государственная академия ветеринарной медицины, 2024. – С. 15-19.

7.Балакирев, Н. А. Эффективность применения белкового гидролизата из мышечной ткани норок в кормлении молодняка соболей и его влияние на их продуктивность / Н. А. Балакирев, Е. А. Момотюк, В. Н. Денисенко // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2014. – № 11(121). – С. 92-98.

8. Калюжная, Т. В. К вопросу о пищевой ценности мяса нутрии / Т. В. Калюжная // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2018. – № 3. – С. 197-199. – DOI 10.17238/issn2072-6023.2018.3.197.
9. Калюжная, Т. В. Послеубойная ветеринарно-санитарная экспертиза и идентификация продуктов убоя нутрии / Т. В. Калюжная // Международный вестник ветеринарии. – 2018. – № 3. – С. 101-104. – DOI 10.17238/issn2072-2419.2018.3.101.
10. Калюжная, Т. В. Изучение спектральных характеристик меламина для оценки безопасности молока и продуктов его переработки при лабораторном контроле / Т. В. Калюжная, А. В. Дрозд // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 2. – С. 166-171. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.2.166.

REFERENCES

1. Polyakova, A. S. The possibility of using fur-bearing animal carcasses for animal and bird food / A. S. Polyakova // Student Science - a look into the future: Proceedings of the XIX All-Russian Student Scientific Conference, Krasnoyarsk, February 27-29, 2024. Krasnoyarsk: Krasnoyarsk State Agrarian University, 2024. pp. 200-204.
2. Balakirev, N. A. Maintenance, feeding and diseases of caged fur-bearing animals / N. A. Balakirev, D. N. Pereldik, I. A. Domsky. Saint Petersburg: Lan Publishing House, 2013. 272 p.
3. Protein hydrolysates / A. A. Deltsov, V. M. Bachinskaya, D. V. Gonchar [et al.]. Moscow: Scientific Library Publishing House, 2024. 160 p. DOI 10.36871/978-5-907823-51-8.
4. Abramov, P. N. Hepatotropic effects in the use of protein hydrolysate / P. N. Abramov // Actual problems of veterinary medicine, zootechny, biotechnology and expertise of raw materials and products of animal origin: Proceedings of the 3rd Scientific and Practical Conference, Moscow, June 28, 2024. – Moscow: Agricultural Technologies Publishing House, LLC, 2024, pp. 104-105.
5. Slesarenko, N. A. Morphological substantiation of the effectiveness of the use of protein hydrolysate in fur farming / N. A. Slesarenko, A.M. Voronin // Proceedings of the Samara State Agricultural Academy. – 2019. – № 4. – pp. 39-47.
6. The effectiveness of protein hydrolysate from mink muscle tissue in colostrum calf dyspepsia / A. I. Albulov, M. A. Frolova, R. V. Rogov [et al.] // Actual problems of treatment and prevention of diseases of young animals: proceedings of the International Scientific and Practical Conference dedicated to the 100th anniversary of the Vitebsk Order of Honor Educational Institution State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, November 04-06, 2024. Vitebsk: Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, 2024, pp. 15-19.
7. Balakirev, N. A. The effectiveness of using protein hydrolysate from mink muscle tissue in feeding young sables and its effect on their productivity / N. A. Balakirev, E. A. Momotyuk, V. N. Denisenko // Bulletin of the Altai State Agrarian University. – 2014. – № 11(121). – Pp. 92-98.
8. Kalyuzhnaya, T. V. On the question of the nutritional value of nutria meat / T. V. Kalyuzhnaya // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. – 2018. – No. 3. – pp. 197-199. – DOI 10.17238/issn2072-6023.2018.3.197.
9. Kalyuzhnaya, T. V. Post-slaughter veterinary and sanitary examination and identification of nutria slaughter products / T. V. Kalyuzhnaya // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2018. – No. 3. – pp. 101-104. – DOI 10.17238/issn2072-2419.2018.3.101.
10. Kalyuzhnaya, T. V. Study of the spectral characteristics of melamine to assess the safety of milk and its processed products during laboratory control / T. V. Kalyuzhnaya, A.V. Drozd // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2024. – No. 2. – pp. 166-171. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.2.166.

УДК: 57:579.636.5/.6:637.5
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.242

ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ ПО ОТНОШЕНИЮ К МЕДЬСОДЕРЖАЩИМ ДОБАВКАМ

Капитонова Е.А. [1]* – д-р биол. наук, проф. каф. зоогигиены и птицеводства имени А.К. Даниловой (ORCID 0000-0002-3549-5969); **Власенко Е.В.** [2] – маг. ветеринар. наук, асс. каф. частного животноводства (ORCID 0000-0002-6800-9517); **Дедкова А.Н.** [1] – асп. каф. зоогигиены и птицеводства имени А.К. Даниловой (ORCID ID 0009-003-0903-5138)

[1] ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»
[2] УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»

**kapitonovalena1110@mail.ru*

Ключевые слова: *тест-микроорганизмы, зона роста, Salmonella enterica, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, медь, медьсодержащие добавки, эссенциальный микроэлемент.*

Keywords: test microorganisms, growth zone, *Salmonella enterica, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa,* copper, copper-containing additives, essential microelement.

Поступила 15.06.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Бактерицидные свойства меди известны с давних времен. Общая тенденция по вытеснению антибиотиков из промышленного животноводства, побудила нас к поиску и созданию новых добавок, обладающих бактерицидными свойствами. Нами была разработана и запатентована кормовая добавка адсорбент микотоксинов двойного действия «Cu-Актив». Нашей целью явилось проведение сравнительного анализа различных медьсодержащих кормовых добавок по заявленным показателям уровня меди, а также их влияние на чувствительность условно-патогенных и патогенных микроорганизмов. Образцы различных добавок с эссенциальным микроэлементом были приобретены в розничной сети, а значит доступны потребителям. Во избежание рекламы и антирекламы в статье указывается только испытуемая форма меди и страна изготовитель, фирма производитель не указывается. При выполнении работ *in vitro* мы руководствовались утвержденными стандартными методиками. Нами было изучено сравнительное действие 5 медьсодержащих добавок, в различных концентрациях и формах применения. Все испытуемые добавки показали высокую степень концентрации меди как действующего вещества. Среднеквадратичное отклонение не превышало нормативных показателей и колебалось в пределах – 0,67-3,93 %. Нами созданная добавка «Cu-Актив» имела наивысшую концентрацию мик-

роэлемента и в 1,7-5,9 раза показала лучший результат, по сравнению с другими добавками. Нами было достоверно установлено, что хелатные формы меди практически не оказывают влияние на зону задержки роста микроорганизмов, в то время как сульфатные формы медьсодержащих композиций, особенно в сухом виде, обладают средней и высокой степенью чувствительности задержки роста различных тест-микроорганизмов (*Salmonella enterica, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa).* Доказано, что созданная нами добавка адсорбент микотоксинов двойного действия, по комплексу полученных результатов, не уступает импортным аналогам и обладает высоким конкурентным преимуществом.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Актуальность применения эссенциальных микроэлементов для повышения продуктивности сельскохозяйственных животных возрастает с каждым годом. Многими учеными установлено их положительное влияние продуктивность и жизнеспособность различных видов сельскохозяйственных животных [1].

Однако, возрастающий поток фальсификатов кормовых добавок, либо некачественно подготовленные к скармливанию компоненты корма, могут не только негативно отражаться на зоотехнических показателях, но и нанести непоправимый вред благополучию поголовья [2].

В эпоху борьбы с антибиотикорезистентностью наше внимание привлекли различные медьсодержащие добавки, которые активно продвигаются на Евразийском рынке. Установлено, что медь может выступать в качестве антисептика и подавлять развитие патогенной и условно -патогенной микрофлоры. Она обладает широким спектром бактерицидной активности [1, 5]. Она применяется в различных отраслях, в том числе в медицине, сельском и домашнем хозяйстве.

Медь, являясь одним из важнейших эссенциальных микроэлементов она принимает участие в построении белков и ферментов (супероксиддисмутазы), в процессе роста и развития клеток, синтезе коллагена, укрепляет костную ткань, препятствует вымыванию минералов, предотвращает остеопороз, стимулирует образование эластина, активизирует работу иммунитета, участвует в синтезе эритроцитов и лейкоцитов, транспортирует железо [1, 2].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

С целью соответствия заявленным показателям уровня меди нами были изучены различные кормовые медьсодержащие добавки, которые представлены на отечественном рынке кормовых добавок. Также нами было проведено определение чувствительности штаммов *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* к различным медьсодержащим добавкам.

При осуществлении экспериментальных исследований мы руководствовались утвержденными методиками. Исследования по изучению влияния различных медьсодержащих добавок на задержку роста некоторых тест-микроорганизмов проводились в отраслевой лаборатории ветеринарной биотехнологии и заразных болезней животных УО ВГАВМ.

Одноразовые 25 чашек Петри залили агаром Мюллера-Хинтон (Mueller Hinton Agar), затем сделали по 7 лунок в каждой. Далее сделали посев 5 видов культур и внесли в лунки № 1, 2 и 3 – растворы медьсодержащих добавок, а в лунки № 4, 5 и 6 – медьсодержащие добавки в сухом виде. Лунка №7 являлась контролем, в нее ничего не вносили. Для навески добавок использовали лабораторные электронные весы с точностью до 0,00001 г.

Для определения чувствительности вышеуказанных микроорганизмов сухой порошкообразный агар Мюллера-Хинтон (Mueller Hinton Agar) растворили в дистиллированной воде в соответствии с инструкцией производителя. После автоклавирования разлили его по чашкам Петри слоем, который не превышал толщину в 4 мм. После застывания агара на 24 часа поместили чашки в термостат при температуре 37°С для инкубации. Затем

провели учет зон задержки роста путем линейного измерения [3, 4].

Схема опыта представлена в таблице 1.

Согласно методическим указаниям считали зону задержки роста до 15 мм – слабой чувствительности, в 15-24 мм – средней чувствительности и более 24 мм – высокой чувствительности микроорганизмов к бактерицидным свойствам медьсодержащих добавок.

Количественное содержание меди в различных кормовых добавках определяли атомно-абсорбционном спектрометре МГА 1000. Чувствительность тест-микроорганизмов определяли согласно: «Методические указания по отбору биологического материала для лабораторных исследований», МУ № 02-1-31/33, утв. ректором УО ВГАВМ от 29.11.2017 г.; Методические рекомендации по постановке тестов ингибирования роста бактерий, выделенных в ветеринарных лабораториях при диагностике болезней животных. утв. ГУВ МСХиП РБ 03.03.2008 (№10-1-5/131); Методическое указание по определению чувствительности к антибиотикам возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных. Утв. ГУВ МСХиП РБ 17.12.2007 (№10-2-5/1112).

Таблица 1 – Схема опыта

Номер группы	Номер подгруппы	Страна производитель	Норма ввода добавки
1	1	Бельгия	0,2 мл 2% раствор хелата меди
	2		0,2 мл 5% раствор хелата меди
	3		0,2 мл 10% раствор хелата меди
	4		0,0015 г хелата меди
	5		0,003 г хелата меди
	6		0,0045 г хелата меди
2	1	Российская Федерация	0,2 мл 2% раствор хелата меди
	2		0,2 мл 5% раствор хелата меди
	3		0,2 мл 10% раствор хелата меди
	4		0,0015 г хелата меди
	5		0,003 г хелата меди
	6		0,0045 г хелата меди
3	1	Республика Беларусь	0,2 мл 2% раствор сульфата меди
	2		0,2 мл 5% раствор сульфата меди
	3		0,2 мл 10% раствор сульфата меди
	4		0,0015 г сульфата меди
	5		0,003 г сульфата меди
	6		0,0045 г сульфата меди
4	1	Республика Польша	0,2 мл 2% раствор сульфата меди
	2		0,2 мл 5% раствор сульфата меди
	3		0,2 мл 10% раствор сульфата меди
	4		0,0015 г сульфата меди
	5		0,003 г сульфата меди
	6		0,0045 г сульфата меди
5	1	Республика Беларусь	0,2 мл 2% раствор «Cu-Актив»
	2		0,2 мл 5% раствор «Cu-Актив»
	3		0,2 мл 10% раствор «Cu-Актив»
	4		0,0015 г «Cu-Актив»
	5		0,003 г «Cu-Актив»
	6		0,0045 г «Cu-Актив»

Анализ полученных результатов проведения научно-исследовательской работы проводили в соответствии с методическими указаниями по методам контроля МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания» (ФЦ госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004 г.) и рекомендаций Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST, v. 14.0) [3, 4].

При проведении научно-исследовательской работы *in vitro* параметры микроклимата находились в норме, температура в помещении 21 ^{0}С, относительная влажность 60 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Отметим, что во избежание коммерческого конфликта интересов, нами указаны только формы реализуемой меди и страна производитель. Название и юридический адрес компаний их производящих, нами намерено не указываются.

Полученные результаты исследования количественного содержания меди в различных медьсодержащих добавках, по заявленным концентрациям, представлены в таблице 2.

Как видно из представленных в таблице 2 показателей, при контрольной закупке различных медьсодержащих добавок, реализуемых в розничной сети, все бренды соответствовали качеству по заявленным показателям. Среднеквадратичное отклонение содержания меди в композициях составило – 0,67-3,93 %. В связи с тем, что медьсодержащие добавки могут применяться в качестве дезинфицирующих препаратов, подкормок для растений, кормовых добавок для животных и других целей, а их передозировка может привести к непоправимым последствиям, гарантия качества является одним из наиболее важных показателей.

В связи с тем, что нас также интересовали качественные показатели добавки из 5-й группы (RU № 2774808, RU № 2780152) в сравнительном аспекте, отметим, что она имела наименьшие отклонения от заявленного содержания эссенциального микроэлемента напыленного на адсорбент микотоксинов. При сравнительном анализе результатов подопытных групп отметим, что добавка «Cu-Актив» в 1,7-5,9 раза превышала качественное содержание меди, по сравнению с другими композициями.

Наиболее важным элементом определения чувствительности микроорганизмов и интерпретации полученных результатов, является питательная среда, в которой происходят два взаимно противоположных процесса: с одной стороны, диффузия антибиотика (в нашем случае – медьсодержащие добавки), с другой стороны – рост и размножение микроорганизмов. Данный метод определения чувствительности к антимикробным препаратам является одним из первых методов и до настоящего времени остается наиболее распространенным в практических бактериологических лабораториях. Метод может применяться для исследования большинства бактериальных возбудителей, в том числе и наиболее распространенных бактерий со сложными питательными потребностями, является универсальным для широкого круга антибиотиков, не требует использования специального оборудования и, при условии строгого соблюдения процедуры тестирования, а также использования качественных материалов (дисков и сред), обеспечивает получение достоверных результатов [3, 4].

Таблица 2 – Результаты исследования задержки роста микроорганизмов

Группа	Содержание меди, мг/кг	СКО, %
1 группа	483,30	1,17
2 группа	557,90	1,21
3 группа	306,70	2,60
4 группа	445,70	3,93
5 группа	77,60	0,67

Примечание: СКО – среднеквадратичное отклонение для МГА 1000 не более 60 %.

В таблице 3 приведены результаты исследований чувствительности наиболее распространенных и клинически значимых патогенов с высоким уровнем антибактериальной устойчивости, которую определяли диско-диффузионным методом.

Как видно из представленных данных, при оценке чувствительности тест-микроорганизмов (*Salmonella enterica, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa*) действием хелатных форм меди, представленных в 1-й и 2-й группах, в жидкой форме не оказывают влияние на патогенные и условно-патогенные микроорганизмы и не могут выступать в качестве дезинфектантов и санитарно-гигиенических средств. В сухой форме вышеуказанные образцы оказывают слабую степень чувствительности на *K. pneumoniae, S. Aureus* и *P. aeruginosa* (см. рисунок). При этом отметим положительный факт, что хелатные формы микроэлементов, для использования в продуктивном животноводстве, не токсичны и их всасывание в желудочно-кишечном тракте осуществляется на 40-50 %.

Таблица 3 – Результаты исследования задержки роста микроорганизмов

Группа	Подгруппа	Диаметр зон задержки роста микроорганизмов, мм				
		Salmonella enterica (ATCC BAA-2162)	Klebsiella pneumoniae (ATCC 700603)	Staphylococcus aureus (ATCC 6538)	Escherichia coli (ATCC 25922)	Pseudomonas aeruginosa (ATCC 9027)
1 группа	1	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-
	3	-	5	-	-	-
	4	-	10	17	-	10
	5	-	15	12	-	12
	6	-	8	15	-	8
2 группа	1	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	10
	5	-	-	6	-	12
	6	-	6	6	-	8
3 группа	1	-	8	-	-	8
	2	12	7	10	10	-
	3	14	14	16	12	8
	4	18	15	16	10	14
	5	15	14	20	14	20
	6	18	22	22	16	26
4 группа	1	14	12	13	12	14
	2	22	14	18	22	15
	3	20	14	24	20	20
	4	22	18	25	23	24
	5	18	23	26	22	22
	6	22	22	25	22	21
5 группа	1	13	11	17	14	9
	2	16	20	22	22	13
	3	18	18	20	24	23
	4	16	18	22	21	18
	5	12	16	20	23	14
	6	15	12	24	16	17

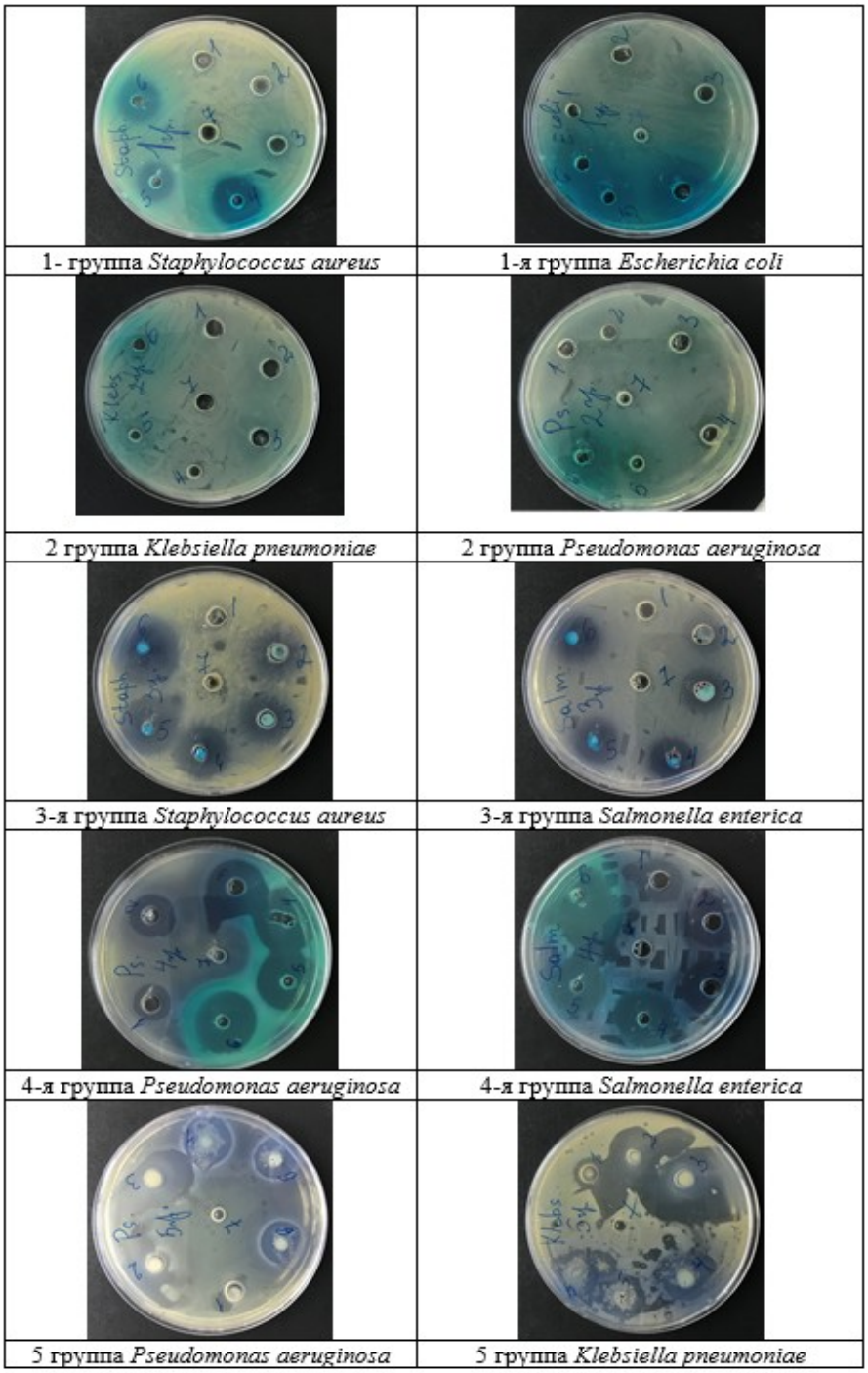


Рисунок 1 – Оценка чувствительности тест-микроорганизмов при воздействии различными медьсодержащими добавками в подопытных группах.

При сравнительном анализе добавок сульфатных форм меди в 3-й, 4-й и 5-й группах (таблица 3, рисунок) отметим, что как в жидкой, так и в сухой форме применения они показывают среднюю и высокую степень чувствительности, по отношению к условно-патогенным и патогенным микроорганизмам. В 4-й группе отмечена абсолютно высокая степень чувствительности добавки в сухой форме по отношению к *S. aureus.*

Полученные данные свидетельствуют о более выраженных бактерицидных свойствах солей микроэлементов, чем хелатов, что влечет за собой определенную ответственность при их дозировании и использовании. В определенной степени они могут выступать как альтернативы антибиотикам. Всасывание микроэлементов в желудочно-кишечном тракте из солей не высоко и достигает 10-18 %. Однако передозировка солей или их пролонгированное использование высоких пределов нормы ввода, могут привести к фатальным результатам.

Разработанная нами, добавка двойного действия «Cu-Актив» (адсорбент микотоксинов обогащенный эссенциальным микроэлементом), в различных концентрациях, на все микроорганизмы реагировала со средней степенью чувствительности. При этом в высоких концентрациях она активно подавляла *S. aureus* и *E. coli.* Считаем, что в современных политических и экономических условиях, отечественная добавка «Cu-Актив», содержащая эссенциальный элемент медь, перспективна и может выступать в качестве альтернативного импортозамещающего бактерицидного средства, которое необходимо применять в дозировках, указанных в инструкции по применению.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Все микроэлементные добавки поступающие на рынок страны предоставляют качественные сертификаты соответствия, либо дополнительно проходят процедуру проверки соответствия по заявленным показателям.

Применение той или иной добавки содержащей эссенциальные элементы, в частности медь, является личным предпочтением потребителя, которое может основываться на ценовой позиции.

На основании проведенных исследований нами было достоверно установлено положительное влияние медьсодержащих композиций на задержку роста различных тест-микроорганизмов (*Salmonella enterica, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa*).

ASSESSMENT OF MICROORGANISMS SENSITIVITY TO COPPER-CONTAINING ADDITIVES

Kapitonova E.A. [1]* – Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Zoohygiene and Poultry Farming named after A.K. Danilova (ORCID ID 0000-0002-3549-5969); **Vlasenko E.V.** [2] – Master of Veterinary Sciences, Assistant of the Department of Private Animal Husbandry (ORCID ID 0000-0002-6800-9517); **Dedkova A.N.** [1] – Postgraduate Student of the Department of Zoohygiene and Poultry Farming named after A.K. Danilova (ORCID ID 0009-003-0903-5138)

[1] FSBEI HE «Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology MVA by K. I. Skryabin»

[2] Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine

**kapitonovalena1110@mail.ru*

ABSTRACT

The bactericidal properties of copper have been known for a long time. The general trend of displacing antibiotics from industrial livestock farming prompted us to search for and create new additives with bactericidal properties. We have developed and patented the feed additive adsorbent of mycotoxins of double action "Cu-Active". Our goal was to conduct a comparative analysis of various copper-containing feed additives according to the declared copper level indicators, as well as their effect on the sen-

sitivity of opportunistic and pathogenic microorganisms. Samples of various additives with an essential microelement were purchased in the retail network, and therefore available to consumers. To avoid advertising and anti-advertising, the article specifies only the tested form of copper and the country of manufacture, the manufacturer is not specified. When performing in vitro work, we were guided by approved standard methods. We studied the comparative effect of 5 copper-containing additives in various concentrations and forms of application. All tested additives showed a high degree of copper concentration as an active substance. The standard deviation did not exceed the standard values and fluctuated within the range of 0.67-3.93%. The additive we created, "Cu-Active", had the highest concentration of the microelement and showed 1.7-5.9 times better results compared to other additives. We have reliably established that chelated forms of copper have virtually no effect on the zone of growth inhibition of microorganisms, while sulfate forms of copper-containing compositions, especially in dry form, have a medium and high degree of sensitivity to growth inhibition of various test microorganisms (Salmonella enterica, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa). It has been proven that the dual-action mycotoxin adsorbent additive we created is not inferior to imported analogues in terms of the range of results obtained and has a high competitive advantage.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Подобед Л.И., Брыло И.В., Капитонова Е.А. Особенности кормления сельскохозяйственных птиц : монография. Минск: ИВЦ Минфина, 2023. 339 с.
2. Производственные риски в промышленном птицеводстве и минимизация потерь: монография / Т.М. Околелова и др. Минск: ИВЦ Минфина, 2024. 104 с.: ил.
3. Методы исследований в ветеринарной микробиологии, вирусологии, эпизоотологии, микологии с микотоксикологией и иммунологии: краткий курс лекций для аспирантов 3 года обучения направления подготовки 36.06.01 «Ветеринария и зоотехния» / Сост.: Е.С. Краникова, А.В. Агольцов // ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ». – Саратов, 2014. – 51 с.
4. Российские рекомендации. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Версия 2024 -02. Год утверждения (частота пересмотра): 2024 (пересмотр ежегодно). — МАКМАХ, СГМУ: Смоленск, 2024. — 192 с.
5. Технологии производства и переработки продукции животноводства: учебное пособие / Улимбашев М.Б. [и др.]. // ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ»; изд-во «Ставрополь-Сервис-Школа». – Ставрополь, 2024. – 207 с.

REFERENCES

1. Podobed L.I., Brylo I.V., Kapitonova E.A. Features of feeding agricultural birds: monograph. Minsk: Information and Communication Center of the Ministry of Finance, 2023. 339 p.
2. Production risks in industrial poultry farming and minimization of losses: monograph / T.M. Okolelova et al. Minsk: Information and Communication Center of the Ministry of Finance, 2024. 104 p.: ill.
3. Research methods in veterinary microbiology, virology, epizootology, mycology with mycotoxicology and immunology: a short course of lectures for 3rd year postgraduate students in the field of study 36.06.01 "Veterinary Science and Animal Science" / Comp.: E.S. Kranikova, A.V. Agoltsov // FGBOU HPE "Saratov State Agrarian University". - Saratov, 2014. - 51 p.
4. Russian recommendations. Determination of the susceptibility of microorganisms to antimicrobial drugs. Version 2024-02. Year of approval (revision frequency): 2024 (revision annually). — MAKMAH, SSMU: Smolensk, 2024. — 192 p.
5. Technologies of production and processing of livestock products: a textbook / Ulimbashev M.B. [et al.]. // FGBNU "North Caucasian Federal Scientific Center"; publishing house "Stavropol-Service-School". - Stavropol, 2024. - 207 p.

УДК: 636.5/.6:637.5
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.250

ВЛИЯНИЕ КОРМОВОЙ МИКРОЭЛЕМЕНТНОЙ ДОБАВКИ ЖЕЛЕЗА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ЕГО УСВОЕНИЯ В ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКЕ КУР-НЕСУШЕК ТРЕТЬЕГО ПЕРИОДА ПРОДУКТИВНОСТИ

Кочиш И.И. – академик РАН, д-р с.-х. наук, проф., зав. каф. зоогигиены и птицеводства имени А.К. Даниловой (ORCID 0000-0002-8502-6052); **Капитонова Е.А.*** – д-р биол. наук, проф. (ORCID 0000-0002-3549-5969); **Мясникова О.В.** – канд. с.-х. наук, доц. (ORCID 0000-0002-9869-0876); **Коновалова Е.М.** – канд. с.-х. наук, доц., асс. каф. зоогигиены и птицеводства имени А.К. Даниловой (ORCID 0000-0002-3549-5969); **Коренюга М.В.** – асс. (ORCID 0000-0002-3549-5969); **Мотин М.С.** – асп. (ORCID 0009-0000-1767-2485)

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

*kapitonovalena1110@mail.ru

Ключевые слова: *куры-несушки, комбикорм, железо, интенсивность яйцекладки, экспрессия генов, метаболизм железа.*

Key words: *laying hens, compound feed, iron, egg laying intensity, gene expression, iron metabolism. laying hens, compound feed, iron, egg laying intensity, gene expression, iron metabolism.*

Финансирование: *Работа выполнена при поддержке гранта РНФ, соглашение № 22-16-00009-П от 10.06.2025 г.*

Поступила: 14.07.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Несмотря на высокие темпы развития отечественного птицеводства и ежегодный рост валового производства пищевых яиц, еще есть резервы повышения рентабельности отрасли. Обеспечение населения высоко качественными и доступными продуктами питания является основой продовольственной безопасности страны. Целью нашей работы явилось изучение возможного продуктивного долголетия кур-несушек при введении в рационы жидкой кормовой биологически активной добавки «БИО-железо» с микроэлементами. В экспериментальной работе было задействовано 120 голов кур-несушек кросса «Браун Ник». Контрольная группа птиц получала только комбикорм. Курам-несушкам опытных групп дополнительно вводилась кормовая добавка в течение 4 недель в разных нормах ввода, из расчета: 28 мкл/гол., 56 мкл/гол., 84 мкл/гол. В начале опытной работы все поголовье кур-несушек было максимально выровнено по продуктивности. Нами еженедельно учитывались основные зоотехнические показатели: яйценоскость, масса яиц, живая масса кур, сохранность поголовья и интенсивность яйцекладки. Применение отечественной жидкой био-

логически активной кормовой добавки «БИО-железо» с микроэлементами, простимулировало метаболизм птицы. Сохранность поголовья была на уровне 100 %. Масса яиц кур -несушек кросса «Браун Ник» увеличилась – на 2,1-6,1 %, средняя живая масса кур – на 1,1-2,6 %, интенсивность яйцекладки составила – 91,79-92,86 %. Полученные результаты свидетельствуют о фундаментальном процессе усвоение железа у кур-несушек, это исследование показывает, что восприимчивость ткани двенадцатиперстной кишки растет пропорционально увеличению концентрации железа в корме. Есть ограничение на запасание железа в виде ферритина в клетках кишечника, а при насыщении железом внутри клетки белки транспортеры выводят его в кровь. В дальнейшем мы планируем оценить экспрессию этих генов в других тканях, например, в печени и матке, и пронаблюдать зависимости от разного ввода железа в рацион кур-несушек с уже полученными данными.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Птицеводство – это стратегическая подотрасль животноводства, которая обеспечивает продовольственную безопасность страны. Яичное птицеводство России ежегодно наращивает мощности производства пищевого яйца. За последние пять лет производство пищевого яйца увеличилось – на 3,9 %, при этом на экспорт в другие страны увеличилось на 7,2 %. Промышленное птицеводство ежедневно сталкивается с рисками, которые могут повлечь за собой огромные экономические потери. Однако строгое соблюдение технологии выращивания птицы, которая включает целый комплекс ветеринарных, зоотехнических и организационных мероприятий, способствует оптимизации получения высококачественной продукции при наименьших затратах [4, 5].

Одним из основополагающих факторов получения максимального количества продукции от кур-несушек, является оптимизация кормления по всем основным питательным элементам комбикорма. Многими учеными установлена необходимость включения в рационы несушек различных макро- и микроэлементов [4, 5]. С возрастом у кур-несушек наблюдается снижение способности организма поддерживать гомеостаз минеральных веществ в костной ткани, что может быть связано с ухудшением состояния слизистых оболочек кишечника и, как следствие, снижением абсорбции микроэлементов [3, 4].

Железо играет важную роль не только в процессах кроветворения, но и для полноценного обеспечения протекания окислительных реакций. Ферритин участвует в регуляции периферического кровяного давления, а доставка Fe+2 в плазму крови производится ферропортином. Кроме того, железо входит в простетические группы ферментов и в состав дегидрогеназ. При недостаточном синтезе гемоглобина, из-за дефицита микроэлемента, у птиц может диагностироваться анемия. У сельскохозяйственной птицы дефицит железа в корме приводит к снижению его содержания в яйце, ухудшению выводимости яиц и выводу цыплят с признаками анемии. В высоких дозах железо, особенно в виде сернокислой соли, обладает токсичностью. Однако в реальных условиях такие дозировки обычно не применяются. Согласно исследованиям, добавление сернокислого железа в рацион кур-несушек в дозе 0,12 г на голову в сутки существенно снижало их яйценоскость [1, 2].

Ключевым этапом метаболизма железа является его дуоденальное всасывание, осуществляемое специализированными транспортными белками. В работе Bai, S. P. показана что экспрессия двухвалентного металлического транспортера 1 (DMT1) происходит в клетках двенадцатиперстной кишке в большей степени. Позже они подтвердили свои результаты экспериментально в работе по влияние органических и неорганических источников железа (Fe) на его усвоение и экспрессию транспортных белков у цыплят-бройлеров в двенадцатиперстной кишке и тонком кишечнике [7, 8]. В этих исследования четко показано что именно в двена-

дцатиперстной кишке происходит экспрессия генов, связанный с усвоением железа и его всасывание (рисунок 1).

В связи с вышеизложенным, наше внимание привлекла жидкая отечественная кормовая биологически активная добавка «БИО-железо» с микроэлементами (ООО «А-БИО», г. Пущино, Россия), в которой Fe находится в биодоступной форме. Считаем, что разработка отечественных кормовых добавок является актуальной, имеет научную новизну и практическую значимость для отрасли птицеводства и обеспечения продовольственного суверенитета страны в целом.

Цель работы – изучить влияние отечественной жидкой добавки «БИО-железо» на экспрессию генов метаболизма железа в двенадцатиперстной кишке и яичную продуктивность кур-несушек третьего продуктивного периода.

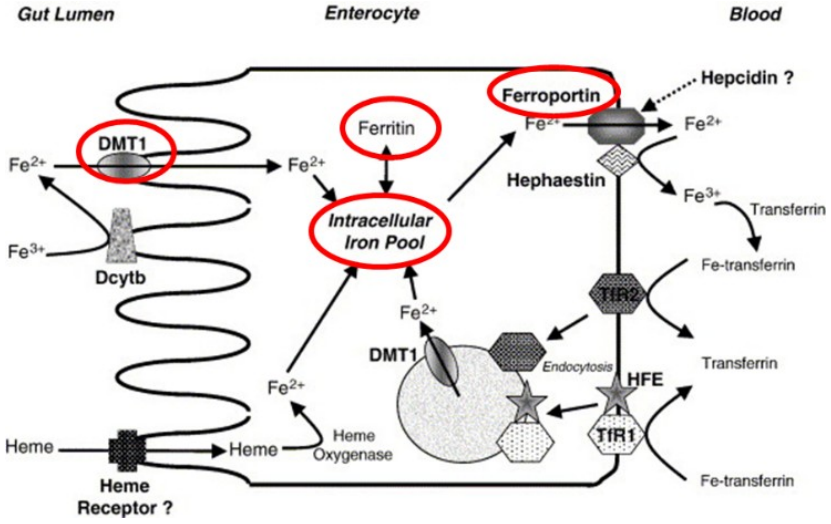


Рисунок 1 – Путь усвоение железа (Fe^{+2}) в энтероците [6].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Для проведения экспериментальной работы нами были взяты куры-несушки кросса «Браун Ник» 781-суточного возраста, которые выращивались в условиях птицефабрики, принадлежащей АК «ВладЗерноПродукт», Владимирской области. Куры были доставлены для дальнейшего использования в виварий кафедры зоогигиены и птицеводства имени А.К. Даниловой ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина. Продолжительность опыта 7 недель, из которых период адаптации составил 3 недели и 4 недели введение кормовой добавки. Для обеспечения продуктивного долголетия кур-несушек кросса «Браун Ник» в основной рацион птице опытных групп вводили «БИО-железо» в различных концентрациях (таблица 1).

Жидкая кормовая добавка «БИО-железо» состоит: железо (Fe^{3+}), медь, кобальт, селен, йодогоргоновая кислота. Курам-несушкам ежедневно скармливался комбикорм в объеме 140 г производства ООО «АгроЦентрСбыт». Основные качественные показатели комбикорма: обменная энергия 265,0 кКал/100 г, сырок протеин – 13,32 %, сырой жир – 3,32 %, железо 25 мг. Из добавки птица получала железо сверх нормы на 5 %, 10 % и 15 %.

Птица содержалась в индивидуальных клетках 3-х ярусных батарей. Температура в помещениях была на уровне 18-20 ^{0}С, влажность 60-63 %. В каждой клетке курам-несушкам ежедневно был предоставлен индивидуальный фронт кормле-

ния и поения, регулярно осуществлялась уборка помета.

На протяжении эксперимента еженедельно учитывались следующие основные зоотехнические показатели: сохранность поголовья, яйценоскость, масса яйца и живая масса кур-несушек. После эксперимента у 5 животных каждой группы проводили отбор двенадцатиперстной кишки для анализа экспрессии генов с предварительной эвтаназией.

Нами были разработаны и протестированы праймеры для определения экспрессии ключевых генов усвоение железа: DMT1 (переносчик двухвалентных металлов 1), отвечающий за всасывание Fe+2 из химуса; FTH1 (ферритин) белок, который запасает железо в нетоксичной форме; FPN1 (ферропортин1) белок-транспортер, отвечающего за вывод железа из клеток в кровоток [9]. В качестве референтных генов были выбраны GAPDH и TBP, однако в ходе исследования было решено отказаться от TBP так как его экспрессия была неадекватной не проходящий внутренний контроль [10, 11].

Праймеры были разработаны в соответствии с рекомендациями MIQE и Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals: все праймеры располагались на экзон-экзон участках кодирующей последовательности гена (CDS), длинна праймеров составляла 18-22 нуклеотида, все праймеры имели схожую температуру отжига, праймеры не имел внутренних зацикливание или шпилек, Энергия Гиббса (ΔG) для гибридизации прямого и обратного праймера не превышала -5 ккал/моль [12].

Последовательности были получены из базы данных RefSeq RNAs после чего вариации этих сиквенсов были выровнены для нахождения оптимального участка. Также выбранные участки, ограниченные праймерами, были протестированы на специфичность в BLAST: мы получили 98-100% попадания в *gallus gallus* и другие виды птичьих (*avian*). Таким образом, нами получены высокоспецифичные праймеры для работы с РНК выбранных генов *in silico* (таблица 2).

Таблица 1 – Схема опыта

Группа	Количество голов	Особенности эксперимента	Содержание железа в корме
1-я контрольная	30	Основной рацион (ОР) 140 г/гол.	25 мг
2-я опытная	30	ОР+«БИО-железо» 28 мкл/гол.	25 мг + 1,4 мг
3-я опытная	30	ОР+«БИО-железо» 56 мкл/гол.	25 мг + 2,8 мг
4-я опытная	30	ОР+«БИО-железо» 84 мкл/гол.	25 мг + 4,2 мг

Праймеры были протестированы *in vitro* на модельной РНК и кДНК полученной от средней пробы двенадцатиперстной кишки кур-несушек. РНК из средней пробы тканей была выделена коммерческим набором RUplus-250 (Биолабмикс, Россия), ОТ-ПЦР-РВ была проведена с каждым геном отдельно в четырёх повторах в одну постановку реакции для определения работоспособности праймеров. Затем концентрат кДНК был разведен для последующего исследования и создания внутреннего контроль (ВКО). ВКО состоял из четырёх десятикратных разведений наработанной матрицы (m10/m100/m1000/m10000) средней пробы для оценки эффективности ПЦР в конкретной постановке.

Таблица 2 – Праймеры генов исследования

Название гена	Gene ID	F	R	Tm, (°C)	E, %
DMT1	NM_001396394	TGATGAGCATCGCC-TATTTGGAC	ACAC-CTCGGCCAGGTGCA	56	97.5
FTH1	NM_205086.2	CTGAGAA-GCTGATGAAGCTGCA	GCACACTCCATT-GCAGTCAG	55	102
FPN1	NM_001012913.2	GCCTGTGCCTTTAA TCTCTGTTAG	GATAATTCATGGAG-TTTTGGACACC	55	103
GAPDH	NM_204305.3	CTTCATCGATCTGA ACTACATGGTTT	GATCACAAGTTTCC CGTTCTCAG	55	103

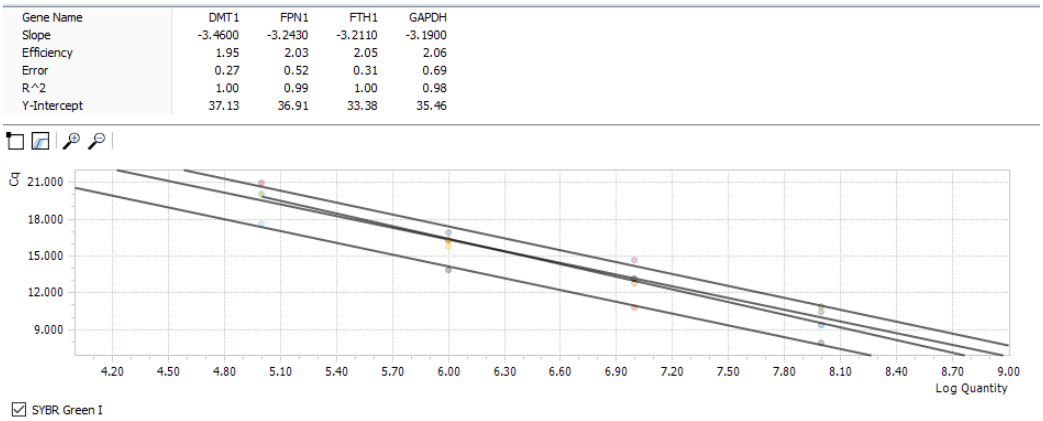


Рисунок 2 – Расчет эффективности ПЦР для генов с красителем SYBR Green.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4
B	5	5	5	6	6	6	7	7	7	8	8	8
C	9	9	9	10	10	10	11	11	11	12	12	12
D	13	13	13	14	14	14	15	15	15	16	16	16
E	17	17	17	18	18	18	19	19	19	20	20	20
F	СР	СР	СР	ОКО	ПКО	М1	М2	М3	М4	ОКО	ПКО	М1
G	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
H	13	14	15	16	17	18	19	20	СР	М2	М3	М4

Рисунок 3 - Схема плашки для ПЦР
зеленый – ген искомый желтый – ген референс.

Градиентная ПЦР была проведена для нахождения оптимальной температуры реакции для смеси из коммерческого набора БиоМастер ОТ-ПЦР SYBR Blue (Биолабмикс, Россия). Оптимальная температура для ПЦР, как и расчетная, составила 55 °С. Эффективность праймеров для каждого гена проводили отдельно методом десятикратных разведений ВКО. В соответствии с рекомендациями эффективность ПЦР для каждого гена был примерно одинаковой (±5 %). Таким образом мы протестировали наши праймеры *in silico* и *in vitro*, они соответствуют всем нормам (рисунок 2).

Исследования *in vivo* включали в себя этапы выделения РНК и постановка ОТ-ПЦР-РВ с последующем расчетом экс-

прессии генов методом Шмитгена-Левака $2^{\wedge-\Delta Ct}$.

Иссечение ткани двенадцатиперстной кишки происходило в середине петли, кусочек ткани помещали в раствор РНК-лейтера и транспортировали в Международную лабораторию молекулярной генетики и геномики птицы кафедры зоогигиены и птицеводства им. А.К. Даниловой. Далее РНК выделили при помощи модифицированного набора RUplus-250 (Биолабмикс, Россия) с добавление 2-Меркаптоэтанола на этапе гомогенизации. Выделенную РНК оценивали количественно на приборе Qubite 3.0 и хранили при температуре -20 °С.

ОТ-ПЦР-РВ реакцию проводили в плашках для ПЦР на приборе Rosh 96, в плашку раскапывалось 20 проб (опытные группы и контрольная по 5 образцов в каждой) и средняя пробы в трех повторах для гена искомого и один повтор для гена референса, ВКО, ПКО, ОКО (рисунок 3).

При таком дизайне эксперимента мы оцениваем работу смеси при каждой ПЦР, что сводит к минимуму ошибки при постановке ПЦР-РВ.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Все куры-несушки, перед проведением экспериментальной работы, в течение двух недель прошли период адаптации к условиям содержания и кормления в виварии академии. В период адаптации ежедневно проводился учет яичной продуктивности и еженедельно живой массы кур-несушек. После оптимизации жизнедеятельности, с учетом выравнивания по продуктивности, они были разделены на четыре группы (таблица 3).

Как видно из представленных показателей, яичная продуктивность кур-несушек 774-дневного возраста, в начале опыта, во всех группах, находились практически на одном уровне. Группы были сформированы таким образом, чтобы ни по одному из изучаемых параметров, они не имели достоверных различий.

В начале эксперимента масса яиц у кур из 1-й контрольной группы, незначительно, но превышала этот показатель в опытных группах, во 2-й – на 1,2 %, в 3-й – на 1,7 % и в 4-й – на 4,9 %, что и побудило нас применять «БИО-железо». Интенсивность яйцекладки находилась во всех группах колебалась в пределах – 84,76-88,57 %.

Результаты стимуляции продуктивного долголетия кур-несушек отечественной биологически активной добавкой «БИО-железо» представлены в таблице 4.

Таблица 3 – Основные показатели продуктивности кур-несушек в начале опыта

Показатель	Группа			
	1-я контрольная	2-я опытная	3-я опытная	4-я опытная
Яйценоскость, шт./гол.	18,0+0,56	18,1+0,41	18,6+0,32	17,8+0,54
Масса яйца, г	65,2+0,96	64,4+0,85	64,1+0,91	62,0+2,41
Живая масса кур, г	1861,5+107,76	1982,6+39,91	2023,0+37,47	1956,0+41,80
Интенсивность яйцекладки, %	85,71	86,19	88,57	84,76

Таблица 4 – Результаты введения кормовой добавки «БИО-железо»

Показатель	Группа			
	1-я контрольная	2-я опытная	3-я опытная	4-я опытная
Яйценоскость, шт./гол.	26,0±0,51	25,9±0,52	26,0±0,40	25,7±0,56
Масса яйца, г	66,5±0,96	67,8±0,97	67,1±0,91	65,8±0,78
Живая масса кур, г	1996,7±38,95	2048,7±41,93	2040,9±43,89	2019,0±27,48
Интенсивность яйцекладки, %	92,86	92,50	92,86	91,79

По окончанию эксперимента отметим, что при обеспечении оптимальных условий кормления и содержания, во всех группах сохранность взрослых кур-несушек составила 100 %. За период эксперимента масса яиц во всех опытных группах возросла, однако наибольший рост был отмечен в опытных группах. Так, масса яиц у кур 1-й группы контроля к концу опыта увеличилась – на 2,0 %, во 2-й группе – на 5,3 %, в 3-й группе – на 4,7 % и в 4-й группе – на 6,1 %. Установлено, что на повышение массы яиц оказало влияние не только условия содержания, но и биологически активная кормовая добавка «БИО-железо» с микроэлементами.

При анализе массы яиц в конце эксперимента отметим, что во 2-й опытной группе она превысила результат группы контроля – на 2,0 %, в 3-й группе – на 1,0 %, а в 4-й группе она была незначительно ниже. Однако отметим, что в 4-й группе была максимальная компенсация массы яиц (+6,1 %), по сравнению с другими опытными группами. Если в начале эксперимента в 4-й опытной группе была отмечена наименьшая масса яиц, по сравнению с группой контроля на уровне 4,9 %, то к концу опыта различия между опытной группой и группой контроля сократились. Применение «БИО-железо» с микроэлементами сократило разрыв между группами и улучшило результат – на 3,8 %. Полученные достижения можно объяснить стимуляцией фолликулов компонентным составом жидкой кормовой биологически активной добавки.

За период эксперимента и ежедневном лимитированном потреблении 140 г комбикорма, куры 1-й контрольной группы увеличили среднюю живую массу кур – на 7,3 %, 2-й опытной – на 3,3 %, 3-й – на 0,9 % и 4-й опытной группы – на 3,2 %, что свидетельствует о создании оптимальных условий кормления и содержания кур в виварии.

Анализируя показатель средней живой массы кур-несушек опытных групп, по сравнению с 1-й группой контроля, отметим увеличение этого показателя во 2-й группе – на 2,6 %, в 3-й группе – на 2,2 % и в 4-й группе – на 1,1 %, что свидетельствовало об эффективности применения «БИО-железо» с микроэлементами для кур-несушек третьего продуктивного периода. Наивысший отклик по живой массе получен во 2-й и 3-й опытных группах.

Интенсивность яйцекладки является комплексным качественным показателем, который свидетельствовал, во-первых, о положительном влиянии снижения технологического стресса у кур старшего возраста при выращивании в виварии академии, что отразилось на продуктивности опытной птицы. Во-вторых, о положительном влиянии кормовой биологически активной добавки «БИО-железо» с микроэлементами курам третьего продуктивного периода. Интенсивность яйцекладки в подопытных группах возросла – на 4,29-7,15 % и достигла к концу эксперимента – 91,79-92,86 %.

Анализ экспрессии генов выявил статистически значимые изменения в транскриптоме между экспериментальными группами и контрольной группой. В частности, отмечено достоверное повышение уровня экспрессии генов усвоение железа в ответ на кормовые добавки (рисунок 4).

Как следует из рисунка 4, наблюдаем значительное увеличение экспрессии всех генов, но с разной динамикой.

Экспрессия **DMT1** гена, кодирующего белок связывающий и переносящий Fe^{+2} в клетки эпителия кишечника, увеличивается пропорционально увеличению концентрации препарата. Организм реагирует на молекулярно-биохимическом уровне на присутствие и увеличение концентрации железа в химусе просвета двенадцатиперстной кишки.

Экспрессия гена **FPN1** или же ферропортин1, что выводит из клетки энтероцита железо в кровь, в второй и третей группе примерно с одинаковой интенсивностью, однако при добавлении 84 мкл/гол мы наблюдаем резкий скачок экспрессии, это может быть связано с насыщением клеток железом, уже некуда запасать его внутри в виде ферритина. Это коррелиру-

ет и с замедлением роста экспрессии **FTH1** в третьей и четвертой группах.

Ферритин запасал железо внутри клеток эпителия пропорционально его всасыванию во второй и третьей группах, однако при повышении концентрации выше 56 мкл/гол мы не наблюдаем пропорционально увеличение экспрессии этого гена, капасити сохранения ферритина, то есть железа в клетке, по нашим расчетам достигается при примерно 3 мг/гол железа.

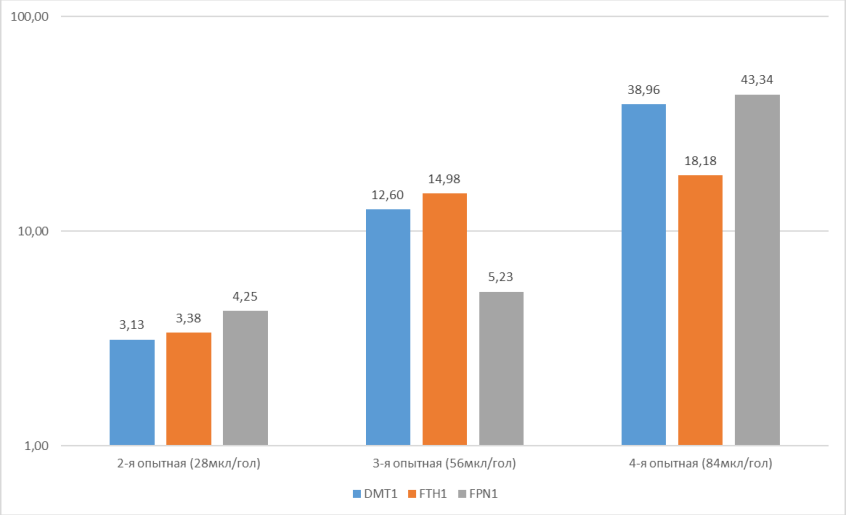


Рисунок 4 – Экспрессия генов связанный с усвоением железа.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Применение отечественной жидкой биологически активной кормовой добавки «БИО-железо» с микроэлементами, простимулировало метаболизм птицы. Сохранность поголовья была на уровне 100 %. Масса яиц кур-несушек кросса «Браун Ник» увеличилась – на 2,1-6,1 %, средняя живая масса кур – на 1,1-2,6 %, интенсивность яйцекладки составила – 91,79-92,86 %. Полученные результаты свидетельствуют о фундаментальном процессе усвоение железа у кур-несушек, это исследование показывает, что восприимчивость ткани двенадцатиперстной кишки растет пропорционально увеличению концентрации железа в корме. Есть ограничение на запасание железа в виде ферритина в клетках кишечника, а при насыщении железом внутри клетки белки транспортеры выводят его в кровь. В дальнейшем мы планируем оценить экспрессию этих генов в других тканях, например, в печени и матке, и пронаблюдать зависимости от разного ввода железа в рацион кур-несушек с уже полученными данными.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Биологическая химия: метод. указ. к лаб. занятиям по биохимии для студ. вет. фак. и врачей ФПК / Пилаева Н.В., Федоров Б.М., Карпенко Л.Ю. [и др.]. – СПбГАВМ, 2002. – 66 с.

2. Биологические основы минерального питания сельскохозяйственной птицы / Медведский В.А. Базылев М.В. Большакова Л.П. Мунаяр Х.Ф. // Научное обозрение. Биологические науки. – 2016. – № 2 – С. 93-108.

3. Кочиш, И.И. Биология и патология сельскохозяйственной птицы / Кочиш И.И., Смоленский В.И., Щербатов В.И. // М.: Издательство Сельскохозяйственные технологии, 2019. – С. 274-283.: ил. – (Учебник для студентов высших учебных заведений).

4. Производственные риски в промышленном птицеводстве и минимизация потерь: монография / Т.М. Околелова [и др.]

– Минск: ИВЦ Минфина, 2024. 105 с.
5. Подобед Л.И. Особенности кормления сельскохозяйственных птиц: монография // Л.И. Подобед, И.В. Брыло, Е.А. Капитонова. – Минск: ИВЦ «Минфина», 2023.–340 с.
6. Rolić, T., Yazdani, M., Mandić, S. et al. Iron Metabolism, Calcium, Magnesium and Trace Elements: A Review. Biol Trace Elem Res 203, 2216–2225 (2025).
7. Bai S, Cao S, Ma X, Li X, Liao X, Zhang L, Zhang M, Zhang R, Hou S, Luo X, Lu L. Organic iron absorption and expression of related transporters in the small intestine of broilers. Poult Sci. 2021 Aug;100 (8):101182. doi: 10.1016/j.psj.2021.101182. Epub 2021 Apr 11. PMID: 34198093; PMCID: PMC8253913.
8. Zhang LY, Li XF, Liao XD, Zhang LY, Lu L, Luo XG. Effect of iron source on iron absorption and gene expression of iron transporters in the ligated duodenal loops of broilers. J Anim Sci. 2017 Apr;95(4):1587-1597. doi: 10.2527/jas.2016.1147. PMID: 28464091.
9. Burge, S., Kelly, E., Lonsdale, D., Mutowo-Muellenet, P., McAnulla, C., Mitchell, A., Sangrador-Vegas, A., Yong, S. Y., Mulder, N., & Hunter, S. (2012). Manual GO annotation of predictive protein signatures: the InterPro approach to GO curation. Database: the journal of biological databases and curation, 2012, bar068. https://doi.org/10.1093/database/bar068
10. Mogilicherla, K., Athe, R. P., Chatterjee, R. N., & Bhattacharya, T. K. (2022). Identification of suitable reference genes for normalization of quantitative real-time PCR-based gene expression in chicken (Gallus gallus). Animal genetics, 53(6), 881–887. https://doi.org/10.1111/age.13252
11. Olias P, Adam I, Meyer A, Scharff C, Gruber AD (2014) Reference Genes for Quantitative Gene Expression Studies in Multiple Avian Species. PLoS ONE 9(6): e99678. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099678
12. World Organisation for Animal Health. (2024). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (3rd ed.).

REFERENCES

1. Biological chemistry: a methodological guide to laboratory classes in biochemistry for students of the veterinary faculty and doctors of the faculty of advanced training / Pilaeva N.V., Fedorov B.M., Karpenko L.Yu. [et al.]. - SPbGAVM, 2002. - 66 p.
2. Biological foundations of mineral nutrition of agricultural poultry / Medvedsky V.A., Bazylev M.V., Bolshakova L.P., Munayar H.F. // Scientific review. Biological sciences. - 2016. - No. 2 - pp. 93-108.
3. Kochish, I.I. Biology and pathology of agricultural poultry / Kochish I.I., Smolensky V.I., Shcherbatov V.I. // M.: Agricultural Technologies Publishing House, 2019. – Pp. 274-283.: ill. – (Textbook for students of higher educational institutions).
4. Production Risks in Industrial Poultry Farming and Loss Minimization: Monograph / T.M. Okolelova [et al.] – Minsk: Information and Communication Center of the Ministry of Finance, 2024. 105 p.
5. Podobed L.I. Features of Feeding Agricultural Poultry: Monograph // L.I. Podobed, I.V. Brylo, E.A. Kapitonova. – Minsk: Information and Communication Center "Minfina", 2023.–340 p.
6. Rolić, T., Yazdani, M., Mandić, S. et al. Iron Metabolism, Calcium, Magnesium and Trace Elements: A Review. Biol Trace Elem Res 203, 2216–2225 (2025).
7. Bai S, Cao S, Ma X, Li X, Liao X, Zhang L, Zhang M, Zhang R, Hou S, Luo X, Lu L. Organic iron absorption and expression of related transporters in the small intestine of broilers. Poult Sci. 2021 Aug;100 (8):101182. doi: 10.1016/j.psj.2021.101182. Epub 2021 Apr 11. PMID: 34198093; PMCID: PMC8253913.
8. Zhang LY, Li XF, Liao XD, Zhang LY, Lu L, Luo XG. Effect of iron source on iron absorption and gene expression of iron transporters in the ligated duodenal loops of broilers. J Anim Sci. 2017 Apr;95(4):1587-1597. doi: 10.2527/jas.2016.1147. PMID: 28464091.
9. Burge, S., Kelly, E., Lonsdale, D., Mutowo-Muellenet, P., McAnulla, C., Mitchell, A., Sangrador-Vegas, A., Yong, S. Y., Mulder, N., & Hunter, S. (2012). Manual

GO annotation of predictive protein signatures: the InterPro approach to GO curation. Database: the journal of biological databases and curation, 2012, bar068. https://doi.org/10.1093/database/bar068
10. Mogilicherla, K., Athe, R. P., Chatterjee, R. N., & Bhattacharya, T. K. (2022). Identification of suitable reference genes for normalization of quantitative real-time PCR-based gene expression in chicken (Gallus gallus). Animal genetics, 53(6), 881–887. https://doi.org/10.1111/age.13252
11. Olias P, Adam I, Meyer A, Scharff C, Gruber AD (2014) Reference Genes for Quantitative Gene Expression Studies in Multiple Avian Species. PLoS ONE 9(6): e99678. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099678
12. World Organization for Animal Health. (2024). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (3rd ed.).

УДК: 612.015.32:796.012.6:636.4.081.4
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.260

ВЛИЯНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ НАГРУЗКИ ПРИ ТРАНСПОРТИРОВКЕ НА ПОКАЗАТЕЛИ ЭНЕРГООБМЕНА У СВИНЕЙ ПЕРЕД УБОЕМ

Нечаев А.Ю.*[1,2] – д-р ветеринар. наук, проф., зав. каф. общей, частной и оперативной хирургии, интерн (ORCID 0000-0001-9035-0036); **Белопольский А.Е.**[1] – д-р ветеринар. наук, доц., зав. каф. ветеринарной гигиены и радиобиологии

[1]ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
[2]ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет»

* netschajew@yandex.ru

Ключевые слова: функциональная нагрузка, транспортировка, энергообмен, свиньи.

Key words: functional load, transportation, energy exchange, pigs.

Поступила: 15.08.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Воздействие стрессовой и транспортной нагрузки при доставке животных на убой сопровождается увеличением энергетических потребностей организма, что в итоге может привести к ухудшению состояния животного и снижению качества мяса, получаемого от него. В данном исследовании для оценки клинико-функционального состояния животного перед убоем определялись показатели энергообмена свиней под влиянием функциональной транспортной нагрузки, которая являлась дозируемым раздражителем (повреждающим фактором). Исследования проводились в производственных условиях на 90 здоровых свиньях белой латвийской породы 6-9 месячного возраста массой 80 – 100 кг. В ходе исследования подопытные животные перед убоем подвергались воздействию повреждающих факторов с целью определения функциональных возможностей организма свиней переносить во время транспортировки и пребывания в убойном пункте физические и стрессовые нагрузки. Полученные результаты позволили оценить динамику изменений показателей энергообмена перед транспортировкой, после доставки на убойный пункт и за 1 час до убоя, провести сравнительный анализ величин уровня глюкозы, концентрации молочной кислоты в крови, показателя изменения уровня дефицита буферных оснований в крови под воздействием функциональной нагрузки различной степени тяжести при транспортировке к месту убоя. Отпущенное на отдых подопытных животных время не обеспечило в полной мере восстановление показателей энергообмена после нагрузки до исходного уровня. В ходе проведенного исследования установлена тенденция к снижению аэробного энергообразования в мышцах животных по мере увеличения транспортной нагрузки перед убоем, что снижает содержание кислот и гликогена в мышечной ткани. В результате создаются условия, способствующие развитию в мясе микроорганизмов, что негативно отражается на его сохранности. Одновременно ухудшается и пищевая ценность мясного сырья, которое характеризуется как DFD (dark, firm, dry) мясо.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Обеспечение населения качественной мясной продукцией во многом зависит от условий получения мясного сырья и от биохимических процессов в мышечной ткани, происходящих перед убоем и после убоя животного [1]. Функционирование мышечной системы обусловлено рядом биохимических реакций, превращающих энергию глюкозы в механическую энергию сокращающихся мышц. При проведении ветеринарно-санитарной экспертизы мяса важно учитывать тот факт, что мясо почти на 80% состоит из мышц, и что факторы, влияющие на метаболизм мышечной ткани животного перед убоем, могут изменить качество и безопасность получаемого в процессе убоя мясного сырья [2,3,7,8].

Целью проведенных исследований, является использование показателей энергообмена для комплексной оценки клинико-функционального состояния свиней на предубойном этапе и обеспечения получения качественного мясного сырья.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводились в производственных условиях на 90 здоровых свиньях белой латвийской породы 6-9 месячного возраста массой 80 – 100 кг. В ходе исследования подопытные животные перед убоем подвергались воздействию повреждающих факторов с целью определения функциональных возможностей организма свиней переносить во время транспортировки и пребывания в убойном пункте физические и стрессовые нагрузки. Время и расстояние от фермы до места убоя определяло длительность и интенсивность нагрузок и легло в основу деления животных на опытные группы: в I группе животные получали лёгкую нагрузку (время в пути до 30 минут и расстояние до 5 км), во II группе – среднюю (время в пути до 60 минут и расстояние до 50 км), в III группе – тяжелую (время в пути до 90 минут и расстояние до 70 км).

Для характеристики уровня энергообмена во всех трех группах регистрировались следующие показатели: концентрация молочной кислоты (HL, ммоль/л), концентрация глюкозы (HGl, ммоль/л) и дефицит буферных оснований (BE, мэкв/л) в крови. Регистрация этих показателей под влиянием функциональных нагрузок позволила оценить интенсивность окислительных процессов, которые обеспечивают энергией организм через аэробный или анаэробный механизмы. Исследования проводились перед транспортировкой животных(А), по прибытии на убойный пункт (В) и после отдыха перед убоем (С), что отражено в таблицах 1 – 3.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

При воздействии функциональной нагрузки в процессе транспортировки скелетные мышцы переходят из состояния покоя в активное движение, что сопровождается возрастанием потребности в АТФ, которая удовлетворяется большей частью за счет энергии гликолиза запаса мышечного гликогена и глюкозы, поступающей из крови. Выбор для исследования в крови подопытных животных уровня глюкозы и молочной кислоты объяснялся активной ролью углеводов в энергообмене при физических и стрессовых нагрузках во время транспортировки свиней на убой [5,9,10].

Перед транспортировкой животных была проведена регистрация уровня глюкозы в крови (HGl). В I группе свиней исходное значение глюкозы составляло 5,2 ± 0,2 ммоль/л, во II группе – 4,8 ± 0,1 ммоль/л, а в III группе – 5,1 ± 0,2 ммоль/л. Значимых различий в концентрации глюкозы между группами до транспортировки не обнаружено ($p<0,05$). Пол и возраст животных также не оказывали существенного влияния на этот показатель.

Интенсивность перенесенной свиньями нагрузки существенно влияла на колебания определяемых значений величины HGl. Она значительно отличалась от исходных показателей с различной степенью статистической достоверности. Сравнение уровня HGl после прибытия на убойный пункт (В) с начальными значениями до транспортировки (А) выявило статистически значимые различия во всех группах.

Таблица 1 демонстрирует, что у свиней, которые подвергались средней и тяжелой нагрузке, при прибытии на убойный пункт наблюдалось повышение уровня глюкозы в крови. Концентрация глюкозы (HGl) возросла с 4,8 ± 0,1 ммоль/л до 8,3 ± 0,2 ммоль/л ($p<0,01$ при $t_{st}=8,81$) при средней нагрузке, а при тяжелой нагрузке — с 5,1 ± 0,2 ммоль/л до 10,2 ± 0,1 ммоль/л ($p<0,01$ при $t_{st}=21,37$). В первой опытной группе при легкой нагрузке наблюдалась подобная динамика этой величины с достоверным возрастанием после транспортировки.

Таким образом, в процессе транспортировки для удовлетворения возрастающих энергетических потребностей организма животного, глюкоза, которая необходима для восстановления запасов мышечного гликогена, поступает в кровеносную систему из гликогена, накопленного в печени.

Таблица 1 – Динамика значений уровня глюкозы в крови (HGl, ммоль/л) у свиней до и после транспортировки, и перед убоем

Группы животных Время исследования	I группа n = 30 $X \pm S_x$	II группа n = 30 $X \pm S_x$	III группа n = 30 $X \pm S_x$
Перед транспортировкой – А	5,2 ± 0,2	4,8 ± 0,1	5,1 ± 0,2
После транспортировки на убойный пункт – В	8,1 ± 0,1	8,3 ± 0,2	10,2 ± 0,1
Перед убоем – С	7,3 ± 0,3	7,1 ± 0,1	8,5 ± 0,2
Достоверность различий полученных величин			
А – В	* * $t_{St}= 13,16$	* * $t_{St}= 8,81$	* * $t_{St}= 21,37$
А – С	* * $t_{St}= 5,61$	* * $t_{St}= 6,39$	* * $t_{St}= 11,07$
В – С	NS $t_{St}= 1,35$	NS $t_{St}= 1,89$	* $t_{St}= 7,27$

*Примечание: n–число свиней в группе, $X \pm S_x$–средняя ± ошибка средней. Уровни значимости: NS – p≥ 0,05 – незначимый; * – p < 0,05 – значимый;*
** *– p < 0,01 – высоко значимый*

При сравнительном анализе значений разных групп наиболее значимые различия были выявлены между I и III группами после транспортировки (В). Это подтверждает возрастание необходимости в пополнении запасов мышечного гликогена у животных после тяжелой нагрузки для поступления большого количества глюкозы в кровь и обеспечения повышенного энергообразования в мышечной ткани.

В период подготовки к убою, который в среднем занимал около часа, у всех экспериментальных групп животных уровень глюкозы в крови не восстановился до исходного значения и варьировался в зависимости от степени значимости. При этом у животных III-й группы отмечались наиболее достоверные различия при сравнении величины HGl перед убоем (С) с исходным значением перед транспортировкой (А). Такие выраженные различия указывают на то, что воздействие физических и стрессовых факторов при транспортировке в условиях повышенной функциональной нагрузки, не позволяло животным восстановить исходные значения концентрации глюкозы в крови.

Другим информативным показателем, который определялся в крови у свиней при функциональной нагрузке во всех опытных группах, являлась величина кон-

центрации молочной кислоты (HL). Этот показатель отражает соотношение аэробных и анаэробных способов получения энергии. При недостатке кислорода в мышцах, что часто происходит при интенсивных физических или эмоциональных нагрузках, анаэробные процессы становятся доминирующими. В результате у животных в крови и мышцах повышается уровень молочной кислоты по сравнению с состоянием покоя [11].

Исследование уровня молочной кислоты (HL) в крови свиней до их транспортировки выявило, что в состоянии покоя этот показатель между группами существенно не отличался и составлял 5,7 ± 0,2 ммоль/л для животных из I группы, 5,6 ± 0,3 ммоль/л для II группы и 5,9 ± 0,1 ммоль/л для III группы. Возрастные и половые различия также не оказали статистически значимого влияния на этот параметр. Изменение уровня молочной кислоты в крови свиней было связано с интенсивностью транспортной нагрузки. Уровень HL достоверно отличался от исходного во всех группах при прибытии на убойный пункт (B) по сравнению с показателями до транспортировки (A).

Анализ уровня молочной кислоты в крови (HL) свиней до транспортировки показал, что в состоянии покоя исходное содержание этого вещества составляло 5,7 ± 0,2 ммоль/л у животных I группы, 5,6 ± 0,3 ммоль/л – у II группы и 5,9 ± 0,1 ммоль/л – у III группы. Существенных различий в начальной концентрации молочной кислоты между группами до транспортировки не выявлено при $p<0,05$. Половые и возрастные различия также не оказали статистически значимого влияния на этот показатель.

Изменение концентрации молочной кислоты в крови свиней зависело от степени функциональной нагрузки. Уровень HL статистически достоверно отличался от исходного во всех группах по прибытии на убойный пункт (B) по сравнению с исходным значением до транспортировки (A).

Таблица 2 – Динамика значений уровня лактата в крови (HL, ммоль/л) у свиней до и после транспортировки, и перед убоем

Группы животных Время Исследования	I группа n = 30 $X \pm S_x$	II группа n = 30 $X \pm S_x$	III группа n = 30 $X \pm S_x$
Перед транспортировкой – A	5,7 ± 0,2	5,6 ± 0,3	5,9 ± 0,1
По прибытии на убойный пункт – B	7,8 ± 0,3	10,3 ± 0,2	12,8 ± 0,1
Перед убоем – C	6,3 ± 0,1	7,6 ± 0,2	9,1 ± 0,4
Достоверность различий полученных величин			
A – B	* * t_{St}= 6,56	* * t_{St}= 14,69	* * t_{St}= 17,30
A – C	* * t_{St}= 5,72	* * t_{St}= 9,55	* * t_{St}= 6,62
B – C	* * t_{St}= 4,05	* * t_{St}= 7,23	* * t_{St}= 6,77

*Примечание: n–число свиней в группе, $X \pm S_x$–средняя ± ошибка средней. Уровни значимости: NS – p≥ 0,05 – незначимый; * – p < 0,05 – значимый;*
** *– p < 0,01 – высоко значимый*

Согласно данным таблицы 2, у свиней, подвергшихся средней и тяжелой нагрузке, имел место рост концентрации лактата в крови к моменту поступления животных на бойню. При средней нагрузке показатель HL увеличился с 5,6 ± 0,3 ммоль/л до 10,3 ± 0,2 ммоль/л ($p<0,01$ при $t_{st}=14,69$), а при тяжелой нагрузке – с 5,9 ± 0,1 ммоль/л до 12,8 ± 0,1 ммоль/л ($p<0,01$ при $t_{st}=17,30$). У свиней I группы при легкой нагрузке также наблюдалось достоверное повышение уровня молочной кислоты после транспортировки до 7,8 ± 0,3 ммоль/л. Однако в процессе пребывания на убойном пункте показатель HL в этой группе снизился до 6,3 ± 0,1 ммоль/л, хотя уровень молочной кислоты после транспортировки (7,8 ± 0,3 ммоль/л) был выше, чем перед убоем (6,3 ± 0,1 ммоль/л), и это различие было статистически значимым ($p < 0,01$ при tst=4,05). Такой результат можно объяснить стрессом, которому подвергались животные на убойном пункте.

Таблица 3 – Динамика изменений дефицита буферных оснований в крови (BE, мэкв/л) у свиней до и после транспортировки, и перед убоем

Группы животных Время Исследования	I группа n = 30 $X \pm S_x$	II группа n = 30 $X \pm S_x$	III группа n = 30 $X \pm S_x$
Перед транспортировкой – A	–0,3 ± 0,32	–0,4 ± 0,21	–0,3 ± 0,41
По прибытии на убойный пункт – B	–1,6 ± 0,25	–1,7 ± 0,63	–2,2 ± 0,55
Перед убоем – C	–0,9 ± 0,32	–1,2 ± 0,55	–1,8 ± 0,38
Достоверность различий полученных величин			
A – B	* * $t_{St}= 3,59$	* $t_{St}= 2,08$	* * $t_{St}= 2,74$
A – C	NS $t_{St}= 1,41$	* $t_{St}= 2,02$	* * $t_{St}= 2,52$
B – C	NS $t_{St}= 1,10$	NS $t_{St}= 0,70$	NS $t_{St}= 1,75$

*Примечание: n–число свиней в группе, $X \pm S_x$–средняя ± ошибка средней. Уровни значимости: NS – p≥ 0,05 – незначимый; * – p < 0,05 – значимый;*
** *– p < 0,01 – высоко значимый*

При сравнении уровня HL перед убоем (C) с исходным значением (A) у свиней III группы было обнаружено значительное увеличение концентрации молочной кислоты до 9,1 ± 0,4 ммоль/л, что превышает исходный уровень в 1,5 раза (5,9 ± 0,1 ммоль/л, $p<0,01$ при $t_{st}=6,62$). Изменения этого показателя перед убоем у животных, получавших легкую и среднюю нагрузку, были менее выраженными по сравнению с исходным уровнем. Это подтверждает, что анаэробный энергообмен в мышечной ткани убойных животных усиливался с увеличением функциональной нагрузки при транспортировке.

Сравнительный анализ уровня HL лактата в крови между группами свиней по прибытии на убойный пункт (B) показал наиболее заметные различия в концентрации молочной кислоты между животными, получавшими тяжелую (HL=12,8±0,1 ммоль/л) и легкую (HL=7,8±0,3 ммоль/л) нагрузку. Представленные в таблице 2 данные указыва-

ют на более интенсивное поступление молочной кислоты в кровь, что говорит о преобладании анаэробного энергообразования при тяжелой функциональной нагрузке по сравнению с легкой.

В ходе исследований энергообмена также измерялся показатель BE (дефицит буферных оснований) для выявления и определения уровня кислых и основных продуктов. Общепринятые нормы колебаний величины BE в крови свиней составляют ± 2,5 мэкв/л. Избыток кислот или дефицит оснований обозначался отрицательным знаком «–» перед показателем BE, а положительный знак «+» указывал на избыток оснований или дефицит кислот. Показатель BE в крови определялся по методике Аструпа как один из основных параметров, характеризующих метаболический компонент величины pH согласно уравнению Гендерсона-Гассельбаха [4,6]. Из данных таблицы 3 следует, что достоверных различий в исходных значениях величины BE у животных всех групп до транспортировки не было выявлено.

После транспортировки свиней на убойный пункт в их крови было обнаружено повышенное содержание недоокисленных метаболитов, что привело к статистически значимому увеличению показателя BE во всех группах по сравнению с исходным уровнем. В таблице 3 представлены соответствующие данные. У свиней I группы дефицит буферных оснований после перевозки увеличился в 5,2 раза относительно исходного значения, а у животных II группы показатель BE возрос в 4,6 раза по прибытии к месту убоя. У свиней III группы определялось наибольшее количество недоокисленных продуктов: –2,2 ± 0,55 мэкв/л по сравнению с исходным уровнем –0,3 ± 0,41 мэкв/л ($p<0,01$ при $t_{st}=2,74$).

Наибольшая достоверность различий в значениях BE была выявлена у животных из I и III групп. В I группе $p<0,01$ (–1,6 ± 0,25 мэкв/л против –0,3 ± 0,32 мэкв/л в начале эксперимента). В III группе дефицит оснований значительно увеличился до тех же значений. Хотя абсолютные изменения BE у животных, подвергавшихся интенсивной нагрузке, были более выраженными, наибольшая статистическая достоверность различий наблюдалась в I группе из-за меньшей вариабельности показателя BE. Анализ изменчивости проводился по величине среднеквадратичного отклонения (σ): при лёгкой нагрузке σ составляла 1,62, при средней — 3,52, а при тяжёлой — 2,95.

Достоверное изменение метаболического компонента pH в сторону ацидоза после транспортировки во всех группах не привело к выраженным отличиям по показателю BE по прибытии на убойный пункт (B). Так между I группой свиней (–1,6 ± 0,25 мэкв/л) и III группой (–2,2 ± 0,55 мэкв/л) разница не была статистически значимой ($p>0,05$, $t_{St}= 1,07$).

Средние значения BE перед убоем (C) превышали исходные показатели (A) во всех группах. У свиней II группы дефицит буферных оснований перед убоем составлял –1,2 ± 0,55 мэкв/л и не вернулся к исходному уровню (–0,4 ± 0,21 мэкв/л). Значимые различия по этому показателю также наблюдались у животных III группы, в то время как в I группе средние значения BE перед убоем не отличались от исходных.

Таким образом, изменения в показателях энергообмена под воздействием физических и стрессовых факторов при транспортировке наблюдались у всех групп животных. Важно отметить, что во II и III группах уровень недоокисленных метаболитов находился на значениях, превышающих исходный уровень и не возвращался к нему на заключительном этапе исследования перед убоем.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Анализируя представленные данные, можно сделать вывод, что у животных, получавших более длительные физические и стрессовые нагрузки, наблюдался более активный метаболизм, обеспечивающий энергообразование в мышечной ткани. Соответственно у свиней III группы тяжелое функциональное напряжение сопровождалось гораздо более интенсивным поступлением в кровь молочной кис-

лоты, чем у свиней I группы при легкой нагрузке. После транспортировки уровень молочной кислоты в крови свиней первой группы вырос на 37,5%, второй группы — на 85,4%, а третьей группы, подвергшейся интенсивной нагрузке, — на 122,4% по сравнению с начальными показателями. Снижение содержания недоокисленных метаболитов в мышечной ткани после убоя отразилось на уровне pH мяса. У свиней, которые перенесли значительные физические нагрузки, наблюдалось статистически значимое повышение pH мяса в конце периода созревания до 5,55 ± 0,08, в то время как у животных с меньшей нагрузкой этот показатель составил 5,36 ± 0,06.

Функциональные исследования энергетического обмена у свиней показали, что увеличение транспортной нагрузки перед убоем снижает резервы аэробного энергообразования, уменьшает содержание кислот и гликогена в мышцах и снижает пищевую ценность мяса, приближая его к характеристикам DFD-мяса. Это также способствует развитию микроорганизмов в мясе и уменьшает его устойчивость при хранении.

THE EFFECT OF THE FUNCTIONAL LOAD DURING TRANSPORTATION ON THE INDICATORS ENERGY EXCHANGE IN PIGS BEFORE SLAUGHTER.

Nechaev A.J.[1,2]* – Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Department of General, Special and Operative Surgery, intern; **Belopolsky A.E.**[1] – Doctor of Veterinary Sciences, Dozent, Head of the Department of Veterinary Hygiene and Radiobiology.

1-Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education SPbSUVM, 2-Don State Technical University

* netschajew@yandex.ru

ABSTRACT

The functional load and stress during transportation of animals for slaughter is accompanied by an increase in the energy needs of the body, which can eventually lead to a deterioration in the condition of the animal and a decrease in the quality of meat obtained from it. In this study, to assess the clinical and functional state of the animal before slaughter, the indicators of pig energy exchange were determined under the influence of the functional transport load, which was a metered irritant (damaging factor). The study was conducted under production conditions on 90 healthy Latvian White pigs, aged 6-9 months and weighing 80-100 kg. During the study, the animals were exposed to damaging factors prior to slaughter to determine their ability to withstand physical and stressful conditions during transport and at the slaughterhouse.The results obtained made it possible to evaluate the dynamics of changes in energy exchange indicators before transportation, after delivery to the slaughterhouse and 1 hour before slaughter, to conduct a comparative analysis of glucose levels, lactic acid concentrations in the blood, and changes in the level of buffer base deficiency in the blood under the influence of functional load of varying severity during transportation to the slaughter site. The time allowed for the experimental animals to rest did not fully restore the energy exchange indicators after the load to the initial level. The study established a tendency to decrease aerobic energy production in animal muscles as the transport load increases before slaughter, which reduces the content of acids and glycogen in muscle tissue. As a result, conditions are created that promote the development of microorganisms in meat, which negatively affects its safety. At the same time, the nutritional value of meat raw materials is deteriorating, which is characterized as DFD (dark, firm, dry) meat.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Долгов, В.А. Обеспечение качества и безопасности продуктов животноводства / В.А. Долгов // Ветеринария. – 2005. - №10. – С. 9-11.

2. Калюжная Т.В. Изменение пищевой ценности мяса с пороками при хранении / Т.В. Калюжная, Л.Ю. Карпенко, Д.А. Орлова//Инновационные технологии производства и переработки сельскохозяй-

ственной продукции в условиях международных санкций: Сборник материалов II Всероссийской научно-практической конференции, Курган, 7 февраля 2024 года. – Курган: Курганский государственный университет, 2024. – С.192 – 195.
3. Калюжная Т.В. Зависимость пищевой ценности мяса от категории качества// Т.В. Калюжная, Л.Ю. Карпенко, Д.А. Орлова//Международный вестник ветеринарии. – 2023. – №2. – С.156 – 160.
4. Нечаев, А.Ю. Оценка предубойного состояния животного/А.Ю.Нечаев// Ветеринария. – 2007. – №3. – С. 54 – 55.
5. Пронин, В.В. Влияние синдрома стресса на качество мяса / В.В. Пронин // Практик. – 2002. – №2. – С. 6–7.
6. Розанцев, Э.Г. Элементы биохимической физики созревания мяса / Э.Г. Розанцев // Мясная индустрия. – 2008. – №8. – С.28 – 33.
7. Семенов В.Г. Профилактика стрессов в промышленном свиноводстве и ветеринарно-санитарная экспертиза свинины / Л.Н. Григорьева, В.Г. Семенов // Научно-образовательная среда как основа развития интеллектуального потенциала сельского хозяйства регионов России: Материалы III Международной научно-практической конференции, Чебоксары, 8 сентября 2023 года. – Чебоксары: Чувашский государственный аграрный университет, 2023. – С. 119 – 122.
8. Смирнов, А.В. Товароведение мяса: учебное пособие / А.В. Смирнов, Г.В. Куляков – Санкт-Петербург: Издательство Гиорд, 2022. – 256 с.
9. Татулов, Ю.В. Влияние стресса свиней на качество мясного сырья / Ю.В. Татулов, Т.В. Косачева, С.А. Кузнецова, Е.Н. Антонова, С.Б. Воскресенский // Мясная Индустрия. - 2009.- №7. - С. 54-56.
10. Hambrecht et al. Presslaughter stress and musle energy largely determine pork quality at two commercial processing plants //J Animal Science – 2004. – Vol. 82. – P. 1401 – 1409.
11. Horsch T. Vergleichende Untersuchungen zum postmortalen pH-Wert, Laktat- und Glykogengehalt in ausgewählten Muskeln beim Schwein unter besonderer Berücksichtigung der Einflussfaktoren Geschlecht, Genotyp und Schlachttag. Dissertation / T. Horsch. – Freie Universität, Berlin, 2003.

REFERENCES

1. Dolgov, V.A. Ensuring the Quality and Safety of Livestock Products / V.A. Dolgov // Veterinary Science. - 2005. - No. 10. - P. 9-11.
2. Kalyuzhnaya T.V. Changes in the Nutritional Value of Defective Meat during Storage / T.V. Kalyuzhnaya, L.Yu. Karpenko, D.A. Orlova // Innovative Technologies for the Production and Processing of Agricultural Products under International Sanctions: Collection of Materials of the II All-Russian Scientific and Practical Conference, Kurgan, February 7, 2024. - Kurgan: Kurgan State University, 2024. - P. 192 - 195.
3. Kalyuzhnaya T.V. Dependence of the Nutritional Value of Meat on the Quality Category // T.V. Kalyuzhnaya, L.Yu. Karpenko, D.A. Orlova // International Veterinary Bulletin. – 2023. – №2. – P.156–160.
4. Nechaev, A.Yu. Evaluation of the preslaughter condition of an animal/ A.Yu.Nechayev// Veterinary science. – 2007. – №3. – P.54–55.
5. Pronin, V.V. The influence of stress syndrome on meat quality / V.V. Pronin // Praktik. – 2002. – №2. – P.6–7.
6. Rozantsev, E.G. Elements of biochemical physics of meat maturation / E.G. Rozantsev // Meat industry. – 2008. – №8. – P.28–33.
7. Semenov, V.G. Stress Prevention in Industrial Pig Farming and Veterinary and Sanitary Expertise of Pork / L.N. Grigorieva, V.G. Semenov // Scientific and Educational Environment as a Basis for Developing the Intellectual Potential of Agriculture in the Regions of Russia: Proceedings of the III International Scientific and Practical Conference, Cheboksary, September 8, 2023. - Cheboksary: Chuvash State Agrarian University, 2023. - pp. 119 - 122.
8. Smirnov, A.V. Meat Commodity Science: A Textbook / A.V. Smirnov, G.V. Kulyakov - St. Petersburg: Giord Publishing House, 2022. - 256 p.

9. Tatulov, Yu.V. The Effect of Pig Stress on the Quality of Raw Meat / Yu.V. Tatulov, T.V. Kosacheva, S.A. Kuznetsova, E.N. Antonova, S.B. Voskresensky // Meat Industry. - 2009.- No. 7. - pp. 54-56.
10. Hambrecht et al. Presslaughter stress and muscle energy largely determine pork quality at two commercial processing plants //J Animal Science – 2004. – Vol. 82. – R. 1401 – 1409.
11. Horsch T. Vergleichende Untersuchungen zum postmortalen pH-Wert, Laktat- und Glykogengehalt in ausgewählten Muskeln beim Schwein unter besonderer Berücksichtigung der Einflussfaktoren Geschlecht, Genotyp und Schlachttag. Dissertation / T. Horsch. – Freie Universität, Berlin, 2003.

БИОХИМИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ

УДК: 619:615.91:636.084.5:614.3
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.269

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЫВОРОТКИ КРОВИ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ФУЗАРИОТОКСИНОВ

Матросова Л.Е.* – д-р биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. микотоксинов (ORCID 0000-0001-7428-7882); **Семёнов Э.И.** – д-р ветеринар. наук, главный научный сотрудник (ORCID 0000-0002-3029-7170); **Ермолаева О.К.** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. микотоксинов (ORCID 0000-0002-9938-6868); **Вафин Ф.Р.** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. микотоксинов (ORCID 0000-0002-2274-8074); **Сагдеева З.Х.** – канд. биол. наук, научный сотрудник (ORCID 0000-0002-8670-1742)

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»

* M.Lilia.Evg@yandex.ru

Ключевые слова: *микотоксины, Т-2 токсин, зеараленон, дезоксиниваленол, фумонизин В1, биохимические показатели.*

Keywords: *prevention, mycotoxins, T-2 toxin,* zearalenone, deoxynivalenol, fumonisin B1, and biochemical indicators.

Поступила: 11.08.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Грибы рода *Fusarium* широко распространены в природе, продуцируют наиболее токсичные микотоксины: Т-2 токсин, диацетоксисискирпенол, ниваленон, дезоксиниваленол, зеараленон, фумонизины, монилиформин. Хотя фузариотоксины обычно присутствуют одновременно в пищевых продуктах и кормах, их комбинированные эффекты все еще мало изучены. Тем не менее, их возможные взаимодействия могут потенциально приводить к антагонистическим, аддитивным или синергетическим эффектам. Целью настоящих исследований являлась оценка биохимических показателей сыворотки крови белых крыс при комбинированном воздействии фузариотоксинов (Т-2 токсин, дезоксиниваленол, зеараленон, фумонизин В1). Эксперимент проводили на 60 белых крысах (масса на начало опыта 119-125 г), разделенных по принципу аналогов на 10 групп. Первая группа была биологическим контролем, вторая – получала корм, содержащий Т-2 токсин в дозе 0,1 мг/кг (на уровне ПДК), третья – корм, содержащий фумонизин В1 в дозе 5,0 мг/кг (на уровне ПДК), четвертая - корм, содержащий дезоксиниваленол в дозе 1,0 мг/кг (на уровне ПДК), пятая группа – корм, содержащий зеараленон в дозе 1 мг/кг (на уровне ПДК), шестая – корм, содержащий смесь микотоксинов в два раза ниже ПДК),седьмая– корм, содержащий смесь микотоксинов на 25 % ниже ПДК), восьмая – корм, содержащий смесь микотокси-

нов в пределах ПДК), девятая-корм, содержащий смесь микотоксинов на 25% выше ПДК), десятая – корм, содержащий смесь микотоксинов на 50 % выше ПДК). Комбинация дезоксиниваленола, Т-2 токсина, зеараленона и фумонизина В1 снижает содержание белка, триглицеридов, глюкозы, повышает содержание билирубина, активность аминотрансфераз, щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтрансферазы.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Токсичные метаболиты микроскопических грибов (микотоксины) представляют значительную опасность для здоровья животных и человека. Поражение кормового сырья токсигенными изолятами микроскопических грибов происходит как в момент роста сельскохозяйственных культур, так и при хранении, что повышает вероятность возникновения сочетанных микотоксикозов [1]. Грибы рода *Fusarium* широко распространены в природе и поражают широкий спектр сельскохозяйственных культур [2-6]. Микромицеты этого рода продуцируют наиболее токсичные микотоксины: Т-2 токсин, диацетоксискирпенол, ниваленон, дезоксиниваленол, зеараленон, фумонизины, монилиформин) [7].

Фузариотоксины могут вызывать острые и хронические токсикозы, обладают канцерогенными, мутагенными, тератогенными, нейротоксическими, гепатотоксическими и иммунодепрессивным действием [8-11]. Точная оценка риска в кормах затруднена из-за отсутствия экспериментальных и научно-обоснованных данных об их токсикологических свойствах и взаимодействии при комбинированном поступлении. При совместным воздействие токсинов возможен синергетический, антагонистический или аддитивный эффект [12, 14].

Целью настоящих исследований являлась оценка биохимических показателей сыворотки крови белых крыс при комбинированном воздействии фузариотоксинов (Т-2 токсин, дезоксиниваленол, зеараленон, фумонизин В1).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проведены в ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (г. Казань). Для воспроизведения фузариотоксикозов использовали микотоксины, полученные в лаборатории микотоксинов, путем культивирования токсигенных изолятов *F. sporotrichiella* (продуцент Т-2 токсина и зеараленона), *F. proliferatum* (продуцент фумонизина В1), *F. graminearum* (продуцент дезоксиниваленола).

Эксперимент проводили на 60 белых крысах (масса на начало опыта 119-125 г), разделенных по принципу аналогов на 10 групп. Первая группа была биологическим контролем, вторая – получала корм, содержащий Т-2 токсин в дозе 0,1 мг/кг (на уровне ПДК), третья – корм, содержащий фумонизин В1 в дозе 5,0 мг/кг (на уровне ПДК), четвертая - корм, содержащий дезоксиниваленол в дозе 1,0 мг/кг (на уровне ПДК), пятая группа– корм, содержащий зеараленон в дозе 1 мг/кг (на уровне ПДК), шестая – корм, содержащий смесь микотоксинов в два раза ниже ПДК),седьмая – корм, содержащий смесь микотоксинов на 25 % ниже ПДК), восьмая – корм, содержащий смесь микотоксинов в пределах ПДК), девятая - корм, содержащий смесь микотоксинов на 25% выше ПДК), десятая – корм, содержащий смесь микотоксинов на 50 % выше ПДК). На 30 сут эксперимента крыс забивали декапитацией, получали сыворотку крови и анализировали содержание белка, глюкозы, триглицеридов, билирубина, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ) и гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ) на биохимическом анализаторе «Microlab 300» (Нидерланды).

Обработку цифрового материала проводили методом вариационной статистики с применением критерия достоверности по Стьюденту на персональном компьютере с использованием программ Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Биохимические показателя являются чувствительными параметрами токсического воздействия микотоксинов.

Достоверных изменений исследуемых биохимических показателей при воздействии фузариотоксинов на уровне предельно-допустимых концентраций (ПДК) не отмечали. Характерные для микотоксикозов изменения биохимических показателей (снижение уровня общего белка, повышение содержания билирубина и др.) регистрировали у животных, получавших корм, содержащий смесь фузариотоксинов в дозе на 25 % ниже ПДК, на уровне ПДК и выше ПДК (таблица 1).

Таблица 1 – Влияние фузариотоксинов и их смеси на биохимические показатели крови белых крыс

Группы животных	Общий белок, г/л	Глюкоза, ммоль/л	Триглицерид, ммоль/л	Общий билирубин, мкмоль /л
1	76,00±1,1	7,90±0,12	1,2±0,02	1,89±0,02
2	76,00 ±1,2	7,67±0,11	1,16±0,03	1,91±0,03
3	74,48±1,1	7,66±0,13	1,20±0,01	1,92±0,01
4	73,87±1,2	7,76±0,12	1,20±0,02	1,94±0,02
5	76,00±1,3	7,77±0,10	1,14±0,03	1,92±0,01
6	72,05±1,1	7,65±0,12	1,15±0,04	1,94±0,02
7	69,69±1,08**	7,41±0,08**	1,08±0,04***	2,00±0,01***
8	67,49±1,2***	7,32±0,10**	1,01±0,02***	2,08±0,03***
9	62,78±1,0***	7,22±0,13**	0,96±0,01***	2,18±0,01***
10	60,95±1,2***	7,08±0,12***	0,90±0,03***	2,24±0,02**

** – p <0,01 в сравнении с группой биологического контроля.
*** – p <0,001 в сравнении с группой биологического контроля.

Так, при введении в рацион смеси микотоксинов в дозе 25 % ниже ПДК и на уровне ПДК, содержание общего белка было ниже, чем в контроле на 8,3 % (P<0,01) и 11,20 % (P<0,001). Значительное снижение концентрации белка в сыворотки лабораторных животных регистрировали при введение микотоксинов в дозах превышающих ПДК. У животных девятой и десятой группы концентрация общего белка была ниже чем у биологического контроля на 17,39 % (P<0,001) и 19,80 % (P<0,001). Печень является основным органом, синтезирующим белки (вырабатывает около 90 % белков, циркулирующих в организме). Повреждение печени при воздействии микотоксинов, нарушает способность синтезировать белки, что приводит к снижению уровня общего белка в сыворотке [13].

Сочетанное воздействие дезоксиниваленола, Т-2 токсина, зеараленона и фумонизина В1 в дозах на 25 % ниже, на уровне и выше ПДК приводило к достоверному увеличению содержания билирубина. У белых крыс седьмой, восьмой, девятой и десятой группы уровень общего билирубина в сыворотке крови был достоверно выше, чем у биологического контроля на 5,8 % (P<0,001), 10,05 % (P<0,001), 15,34 % (P<0,001) и 18,52 % (P<0,001).

Триглицериды – это важный запасной источник энергии в организме. В седьмой, восьмой, девятой и десятой группы этот показатель был достоверно ниже, чем в группе биологического контроля на 10,0 % (P<0,001), 15,83 % (P<0,001), 20,0 % (P<0,001) и 25,0 % (P<0,001).

Наиболее выраженное снижение концентрации глюкозы регистрировали у белых крыс, получавших корм в дозе превышающей ПДК. У животных девятой и десятой группы количество глюкозы в

сыворотке крови было ниже, чем у биологического контроля на 8,6 % (P<0,01) и 10,38 % (P<0,001).

Воздействие микотоксинов сопровождается нарушением функции печени, что приводит к значительному повышению уровня печеночных ферментов в сыворотке крови (таблица 2).

Скармливание лабораторным животным корма, содержащего смесь фузариотоксинов в дозах на 25 % ниже, на уровне и выше ПДК приводило к повышению уровня аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы и щелочной фосфатазы. У животных седьмой группы и восьмой группы активность АСТ, АЛТ и ЩФ было выше, чем у биологического контроля на 4,3 % (P<0,01), 9,6 % (P<0,001) и 10,3 % (P<0,001); 7,5 % (P<0,01), 13,61 % (P<0,001) и 15,60 % (P<0,001), соответственно. Значительные изменения активности печеночных ферментов регистрировали у животных, получавших смесь микотоксинов в дозах, превышающих ПДК. Повышение показателей печёночных ферментов АЛТ, АСТ и ЩФ в девятой группе составило 18,4 % (P<0,001), 8,4 % (P<0,001) и 18,6 % (P<0,001), в десятой – 25,4 % (P<0,001), 9,2 % (P<0,001) и 20,4 % (P<0,001), соответственно. Возможно, изменения активности ферментов печени связаны с аномальной экскрецией метаболитов печени и гиперплазией желчных протоков.

Гамма-глутамилтрансфераза – микросомальный фермент, участвующий в метаболизме аминокислот, изменения которого свидетельствуют о развитии патологических процессов. Воздействие дезоксиниваленола, Т-2 токсина, зеараленона и фумонизина В1 в дозах на 25 % и 50 % выше ПДК приводило к повышению активности фермента на 5,51 (P<0,01) и 8,37 % (P<0,001).

Таблица 2 – Влияние фузариотоксинов и их смеси на ферментный статус крови белых крыс

Группы животных	АЛТ, Ед/л	АСТ, Ед/л	ЩФ, Ед/л	ГГТ, Ед/л
1	48,20±0,84	180,00±2,84	82,0±1,58	4,9±0,10
2	49,55±0,82	182,16±2,84	84,54±1,56	4,9±0,11
3	49,60±0,81	182,70±2,81	84,21±1,52	4,96±0,12
4	50,13±0,82	181,62±2,81	85,53±1,53	4,95±0,13
5	50,13±0,86	181,98±2,83	85,28±1,54	5,00±0,10
6	50,75±0,83	183,24±2,84	86,76±1,56	5,00±0,12
7	52,83±0,74**	187,74±2,63**	90,45±1,62***	5,04±0,11
8	54,76±0,80***	193,50±2,79**	69,21±1,63***	5,06±0,10
9	57,07±0,77***	195,12±2,82***	66,75±1,54***	5,17±0,10**
10	60,44±0,81***	196,56±2,86***	65,27±1,50***	5,31±0,08***

** – p <0,01 в сравнении с группой биологического контроля.
*** – p <0,001 в сравнении с группой биологического контроля.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведенные исследования показали, что хроническое воздействие фузариотоксинов вызывает изменение биохимических показателей сыворотки крови. Комбинация дезоксиниваленола, Т-2 токсина, зеараленона и фумонизина В1 снижает содержание белка, триглицеридов, глюкозы, повышает содержание билирубина, активность аминотрансфераз, щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтрансферазы. При увеличении дозы микотоксинов экспериментальным животным негативные последствия усиливались. Доказан синергетический эффект воздействия исследуемых фузариотоксинов в допустимых и

превышающих индивидуальные уровни, установленных для отдельных микотоксинов.

BIOCHEMICAL PARAMETERS OF WHITE RAT BLOOD SERUM UNDER COMBINED EXPOSURE TO FUSARIOTOXINS

Matrosova L.E.* – Dr. of Biol. Sci., Leading Researcher Mycotoxin laboratory (ORCID 0000-0001-7428-7882); **Semenov E.I.** – Dr. of Vet. Sci., Chief Researcher Mycotoxin laboratory (ORCID 0000-0002-3029-7170); **Ermolaeva O.K.** – Ph.D. of Biol. Sci., Senior Researcher Mycotoxin laboratory (ORCID 0000-0002-9938-6868); **Vafin F.R.** – Ph.D. of Biol. Sci., Senior Researcher Mycotoxin laboratory (ORCID 0000-0002-2274-8074); **Sagdeeva Z.Kh.** – Ph.D. of Biol. Sci., Researcher (ORCID 0000-0002-8670-1742)

FSBSI «Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety»

* M.Lilia.Evg@yandex.ru

ABSTRACT

Fusarium fungi are widely distributed in nature and produce the most toxic mycotoxins: T-2 toxin, diacetoxyscirpenol, nivalenol, deoxynivalenol, zearalenone, fumonisins, and moniliformin. Although fusariotoxins are commonly present in food and feed, their combined effects are still poorly understood. However, their possible interactions can potentially lead to antagonistic, additive, or synergistic effects. The purpose of this study was to evaluate the biochemical parameters of the blood serum of white rats under the combined effect of fumagillin (T-2 toxin, deoxynivalenol, zearalenone, fumonisin B1). The experiment was conducted on 60 white rats (weighing 119-125 g at the beginning of the experiment), divided into 10 groups based on the principle of analogues. The first group was a biological control, the second received a feed containing T–2 toxin at a dose of 0.1 mg/kg (at the MPC level), the third received a feed containing fumonisin B1 at a dose of 5.0 mg/kg (at the MPC level), the fourth received a feed containing deoxynivalenol at a dose of 1.0 mg/kg (at the MPC level), the fifth group is a feed containing zearalenone at a dose of 1 mg/kg (at the MPC level), the sixth is a feed containing a mixture of mycotoxins two times lower than the MPC), the seventh is a feed containing a mixture of mycotoxins 25% lower than the MPC), the eighth is a feed containing a mixture of mycotoxins in within the maximum permissible concentration), the ninth is a feed containing a mixture of mycotoxins 25% higher than the maximum permissible concentration), the tenth is a feed containing a mixture of mycotoxins 50% higher than the maximum permissible concentration). The combination of deoxynivalenol, T-2 toxin, zearalenone, and fumonisin B1 reduces the content of protein, triglycerides, and glucose, and increases the content of bilirubin, the activity of aminotransferases, alkaline phosphatase, and gamma-glutamyltransferase.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Изучение защитного действия профилактических комплексов на ультраструктуру гепатоцитов кроликов при сочетанном микотоксикозе / Е.Ю. Тарасова [и др.] // Ветеринарный врач. - 2023 -№1. - С. 57-63. – doi: 10.33632/1998-698X_2023_1_57

2. Разнообразие грибов рода Fusarium и их микотоксинов в зерне из азиатской части России / О.П. Гаврилова, Т.Ю. Гаткаева, А.С. Орина [и др.] // Микология и фитопатология. – 2022. – Т. 56. – № 3. – С. 194-206.

3. Smolentsev, S.Yu. Toxicological monitoring of toxic chemicals in the soil and animal feed in the republic of Mari El / S. Yu. Smolentsev, I.N. Polikarpov, R.Kh. Ravilov [et al.] // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. - 2018. - Т. 9. - № 1. - P. 840-844.

4. DNA sequence-based identification of Fusarium: current status and future directions / K. O'Donnell [et al.] // Phytoparasitica. – 2015. – №43. – pp.583–595.

5. Милованкин, Д.И. Изменение мицелиального штамма Fusarium sambucinum varsambucinum после воздействия ультрафиолетового облучения / Д.И. Милован-

кин, Р.М.Потехина / Ветеринарный врач. - 2023 - №1 - С. 37-41.
6. Пирязева, Е.А. Пораженность грубых кормов токсинообразующими грибами рода Fusarium / Е.А. Пирязева, Г.П. Кононенко, А.А. Буркин // Сельскохозяйственная биология. – 2016. – Т. 51. – №. 6. – С. 937-945.
7. A case of laying hens mycosis caused by Fusarium proliferatum / R.M., Potekhina [et al.] // Veterinary Medicine International. - 2023 - Т. 2023.- С. 5281260
8. Тарасова, Е. Ю. Изыскание средств для лечения животных при Т-2 микотоксикозе : специальность 06.02.03 "Ветеринарная фармакология с токсикологией" : диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Тарасова Евгения Юрьевна. – Казань, 2010 – 209 с.
9. Мишина, Н.Н. Профилактическая эффективность лигнин- и полисахаридсодержащих энтеросорбентов при сочетанном Т-2 и афлатоксикозе : специальность 16.00.04 : диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Мишина Наиля Нариановна. – Казань, 2008. – 162 с.
10. Сагдеев, Д. Р. Токсичность свинца и Т-2 токсина при их совместном поступлении в организм животных / Д.Р. Сагдеев // Ветеринарный врач. – 2021. – № 6. – С. 61 -65.
11. Влияние комбинированного действия микотоксинов и ионизирующего излучения на аллергическую сенсибилизацию / Э. И. Семенов [и др.] // Ветеринарный врач. – 2023 – № 2 – С. 60-69.
12. Natural Co-occurrence of mycotoxins in foods and feeds and their in vitro combined toxicological effects / M.C. Smith, S. Madec, E. Coton [et al.] // Toxins. – 2016. - 8 https://doi.org/10.3390/toxins8040094
13. Trefts, E. The liver / E. Trefts, M. Gannon, D. Wasserman // Curr. Biol. – 2017. – 27. – 1147-1151.
14. Применение энтеросорбентов в животноводстве / К. Х. Папуниди, М. Я. Тремасов, А. А. Иванов [и др.] // Ветеринарный врач. – 2010. – № 5. – С. 20-22. – EDN OIMHZX.

REFERENCES

1. Study of the protective effect of prophylactic complexes on the ultrastructure of rabbit hepatocytes with combined mycotoxicosis / E.Yu. Tarasova [and others] // Veterinarny vrach. - 2023 -№1. - P. 57-63. – doi: 10.33632/1998-698X_2023_1_57
2. Diversity of fungi of the genus Fusarium and their mycotoxins in grain from the Asian part of Russia O.P. Gavrilova, T.Yu. Gagkaeva, A.S. Orina [et al.] // Mycology and phytopathology. – 2022. – Vol. 56. – №. 3. – P. 194-206.
3. Smolentsev, S.Yu. Toxicological monitoring of toxic chemicals in the soil and animal feed in the republic of Mari El / S. Yu. Smolentsev, I.N. Polikarpov, R.Kh. Ravilov [et al.] // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. - 2018. - Т. 9. - № 1. - P. 840-844.
4. DNA sequence-based identification of Fusarium: current status and future directions / K. O'Donnell [et al.] // Phytoparasitica. – 2015. – № 43. – P.583–595.
5. Milovankin, D.I. Changes in the mycelial strain of Fusarium sambucinum varsambucinum after exposure to ultraviolet irradiation / D.I. Milovankin, R.M. Potekhina // The Veterinarian - 2023 - №1 - P. 37-41. – doi: 10.33632/1998-698X_2023_1_37
6. Piryazeva, E.A. Infestation of roughage with toxin-forming fungi of the genus Fusarium / E.A. Piryazeva, G.P. Kononenko, A.A. Burkin // Agricultural biology. - 2016. - Vol. 51. - №. 6. - P. 937-945
7. A case of laying hens mycosis caused by Fusarium proliferatum / R.M., Potekhina [et al.] // Veterinary Medicine International. - 2023 - Т. 2023.- С. 5281260
8. Tarasova, E. Y. Finding remedies for the treatment of animals with T-2 mycotoxicosis: specialty 02.06.03 "Veterinary pharmacology with toxicology" : dissertation for the degree of Candidate of Biological Sciences / Tarasova Evgeniya Yuryevna. – Kazan, 2010 – 209 рю
9. Mishina, N.N. Preventive efficacy of lignin- and polysaccharide-containing enterosorbents in combined T-2 and aflatoxicosis: specialty 16.00.04: dissertation for the degree of candidate of biological sciences /

Mishina Nailya Narimanovna. - Kazan, 2008. - 162 p.
10. Sagdeev D. R. Toxicity of lead and T-2 toxin when they enter the animal body together. // The Veterinarian. – 2021. – №6. – P. 61-65.
11. The effect of the combined action of mycotoxins and ionizing radiation on allergic sensitization / E. I. Semenov [et al.] // The Veterinarian - 2023 - No. 2 - P. 60-69.
12. Natural Co-occurrence of mycotoxins in foods and feeds and their in vitro combined toxicological effects / M.C. Smith, S. Madec, E. Coton [et al.] // Toxins. – 2016. - 8 https://doi.org/10.3390/toxins8040094
13. Trefts, E. The liver / E. Trefts, M. Gannon, D. Wasserman // Curr. Biol. – 2017. – 27. – 1147-1151.
14. Use of enterosorbents in animal husbandry / K. Kh. Papunidi, M. Ya. Tremasov, A. A. Ivanov [et al.] // Veterinary doctor. - 2010. - No. 5. - P. 20-22. - EDN OIMHZX.

УДК: 636.52/.58.087.7:611.329
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.276

ОСОБЕННОСТИ МИКРОАНАТОМИИ ШЕЙНОЙ ЧАСТИ ПИЩЕВОДА БРОЙЛЕРОВ КРОССА «РОСС-308» ПОД ВЛИЯНИЕМ ЭНТЕРОСОРБЕНТА И БИОФЛАВОНОИДА

Горшкова Е.В.* – канд. ветеринар. наук, доц. каф. нормальной и патологической морфологии и физиологии животных (ORCID 0009-0004-9156-7463); **Адельгейм Е.Е.** – канд. ветеринар. наук, доц. каф. нормальной и патологической морфологии и физиологии животных (ORCID 0009-0003-2185-9375); **Башина С.И.** – канд. биол. наук, доц. каф. нормальной и патологической морфологии и физиологии животных (ORCID 0000-0002-4461-8924)

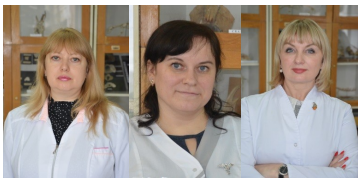
ФГБОУ ВО «Брянский государственный аграрный университет»

* elena-valentina@yandex.ru

Ключевые слова: *биофлавоноид, энтеросорбент, бройлеры, шейная часть пищевода, гистология.*

Key words: *bioflavonoid, enterosorbent, broilers, cervical part of the esophagus, histology.*

Поступила: 13.05.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025



РЕФЕРАТ

При промышленном выращивании бройлеров все активнее применяют биологически активные препараты, способствующие увеличению темпов роста и развития птицы. В статье представлены результаты исследований по динамике гистологических структур шейной части пищевода цыплят бройлеров кросса Ross-308 за период от начала выращивания до технологического убойного срока при использовании кормовых добавок (энтеросорбента «Ковелос-Сорб» и биофлавоноида «Экостимул-2») отечественного производства в дополнение к основному рациону кормления. Цыплята групп №1, №2 и №3 получали «Ковелос-Сорб» в дозах 0,1 грамм, 0,14 грамма и 0,18 грамма на 1 кг живой массы в сутки, а «Экостимул-2» - 1 миллиграмм на 1 кг живой массы в сутки. Опыт проводили на кафедре нормальной и патологической морфологии и физиологии животных Брянского ГАУ. Методика исследования включала себя подготовку тонких гистологических срезов и проведение микрометрии слизистого, мышечного и адвентициального слоев, подслизистой основы шейного отдела. Динамические изменения фиксировали каждые 10 дней. По результатам микрометрии провели статистическую обработку данных и их анализ. В следствие эксперимента нами отмечено, что введенные в основной рацион бройлеров биодобавки оказали положительное влияние на гистометрические показатели толщины стенки пищевода как в целом, так и его слоев, особенно подслизистой основы, а также на количество и диаметр желез подслизистой основы в сторону увеличения. Зафиксировано преобладание микрометрических структур у птиц

опытных групп, особенно третьей, в сравнении с контрольной, что свидетельствует о стимулирующем действии применяемых добавок на развитие шейного отдела пищевода. Увеличение числа в поле зрения микроскопа и диаметра желез подслизистой основы у бройлеров опытных групп указывает на более активный процесс выделения слизи и ее взаимодействие с кормом, чем у особей контрольной группы.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

На ближайшую пятилетку агропродовольственная политика направлена на активное импортозамещение. В таких условиях рыночной экономики совершенствование птицеводства и производства продукции этой отрасли стала основным направлением ее реализации за счет доступности в питания населения экологически чистой продукцией [2, 9].

На первое место выходит вопрос об изменении технологий кормления с целью повышения ветеринарно-санитарной безопасности продукции птицеводства, которая предлагается населению. Генетические возможности и особенности выращивания мясных кроссов птицы, когда убойный вес достигается раньше забойного возраста (35 – 40 дней), требуют детального рассмотрения вопросов профилактики заболеваний инфекционного и неинфекционного происхождения и особенно желудочно-кишечного тракта. Добавление к основному рациону биологически-активных добавок способствует улучшению физиологического состояния, повышению резистентности, антиоксидантных и противовоспалительных способностей организма [11].

Компоненты корма, а также вводимые в рационы биодобавки попадают в пищеварительную систему. Они же способствуют усвоению питательных веществ, а также влияют на набор массы птицы и животных. А это, в свою очередь, может быть связано с преобразованием слоев и структурных единиц стенки отделов пищеварительной трубки [3, 4].

Отечественными учеными накоплен значительный материал по введению в рацион биологически активных добавкок, в том числе и добавок природного происхождения. Вопрос воздействия сорбентов, биофлавоноидов и других биодобавок на зоотехнические показатели цыплят-бройлеров, сохранность поголовья, а также макро- и микроморфологию некоторых внутренних органов, мышц и костей изучен довольно подробно [5, 7, 8, 12]. Однако вопросом их влияния на морфологию и гистологическое строение отделов пищевода практически никто не занимался.

Учеными доказано, что от интенсивности протекания метаболических процессов в организме птицы зависит то, насколько хорошо и полностью будут усвоены питательные вещества корма. Сбой в работе хотя бы одного органа пищеварительного аппарата может привести к развитию патологий [10, 13].

Учитывая вышеизложенное, изучение особенностей микроструктурной организации отделов пищевода бройлеров при использовании в рационе биодобавок представляет актуальную научную проблему.

Цель работы – установить динамику некоторых гистологических структур шейной части пищевода у бройлеров кросса «Росс 308» у трех экспериментальных групп при введении в рацион биологически активных добавок «Ковелос-Сорб» и «Экостимул-2» в зависимости от дозировок и возрастного аспекта.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования по данной теме выполнены на базе вивария института ветеринарной медицины и зоотехнии Брянского ГАУ.

В качестве объектов исследования рассматривали бройлеров кросса «Росс 308» четырех возрастных групп 10, 20, 30 и 40 суток сформированные в 4 группы: контрольная и три опытные. Все особи групп в эксперименте находились в аналогичных условия содержания и кормления. Особи контрольной группы получали только основной рацион, а цыплята групп №1, №2 и №3 получали помимо основного рациона добавки «Ковелос-

Сорб» в дозе 0,1 грамм, 0,14 грамма и 0,18 грамма на 1 кг живой массы в сутки и «Экостимул-2» - 1 миллиграмм на1 кг живой массы в сутки.

Материалом для гистологического изучения являлись кадаверные части предзобной части пищевода клинически здоровых птиц.

В ходе эксперимента каждые 10 дней проводили убой трех цыплят из исследуемых групп. После тонкого анатомического препарирования извлекали пищеводы, фиксировали в формалине. Зафиксированный материал подвергали уплотнению путем заливки в парафин по общепринятой методике [6].

Гистометрию и его анализ осуществляли при помощи микроскопа JENAMED 2, окуляр GF-PW 10×25, объективы 40 – 100, цифровой видеокамеры BEWARD, а также программного обеспечения Carl Zeiss Axio Vision rel. 4.8.2. Цифровой материал, полученный в ходе эксперимента, анализировался и был обработан биометрически [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

При гистологическом исследовании стенки шейного отдела пищевода была выявлены следующие слои: слизистый, мышечный и адвентициальный, а также подслизистая основа.

При сравнительной оценке гистологических характеристик стенки шейной части пищевода (табл. 1.) показана ее вариабельность в исследованных группах птицы. Но отмечено превосходство в ее динамике у бройлеров группы опыт №3, начиная с 10 суток и в последующие возрастные периоды.

Слизистая оболочка представлена многослойным плоским эпителием, собственной и мышечной пластинками. При анализе изменений в гистологии слизистой оболочки отмечено увеличение ее толщины за счет роста собственной пластинки.

Так, в динамике толщины слизистой оболочки (табл. 2.) у цыплят возрастной группы 10 суток, отметим наименьшее ее значение в группе контроль - 76,3±2,30 мкм, а максимальное – в группе опыт №3 - 85,4±2,9 мкм, составляя разницу в 9,1 мкм.

У бройлеров возрастной группы 20 суток разница в динамике слизистой оболочки не слишком велика по сравнению с предыдущим возрастом и в разрезе экспериментальных групп по отношению к группе контроль составляет 5,81 мкм, 7,9 мкм и 9,83мкм для групп опыт №1, №2 и №3 соответственно.

В последующие периоды выращивания (30 и 40 суток) максимальная толщина слизистой оболочки отмечена у цыплят группы опыт №3.

Анализируя динамику толщины подслизистой основы (табл. 3.) видим, что наименьшие значения вновь зафиксированы у цыплят контрольной группы, а наибольшие, незначительно отличаясь, у 2 и 3 опытной группы по всем исследуемым возрастным периодам постнатального онтогенеза. Разница в динамике толщины подслизистой основы от 10 суточного по 40 суточный возраст у группы контроль составила 295,9 мкм; у групп опыт №1, №2 и №3 – 294,05 мкм, 294,56 мкм и 293,36 мкм соответственно.

Таблица 1 – Анализ динамики толщины стенки шейного отдела пищевода, мкм

Возраст бройлеров, сутки	Группы бройлеров в эксперименте			
	Контроль	Опыт №1	Опыт №2	Опыт №3
10	352, 35±0,21	353,69±1,62	368,58±0,50	373,05±0,51
20	635,95±0,20	648,32±1,52	651,96±0,50	783,56±0,51
30	995,7±0,35	990,83±0,42	1145,31±11,1	1237,23±11,4
40	1232,61±6,55	1353±7,02	1389,5±7,12	1554,60±7,02

Таблица 2 – Анализ динамики толщины слизистой оболочки, мкм

Возраст бройлеров, сутки	Группы бройлеров в эксперименте			
	Контроль	Опыт №1	Опыт №2	Опыт №3
10	76,3±2,30	82,35±3,02	81,4±2,31	85,4±2,9
20	102,4±1,42	108,21±1,32	110,3±2,22	112,23±2,9
30	125,30±8,02	129,33±1,69	135,33±12	138,1±2,6
40	141,0±1,69	145,6±1,32	151,25±1,12	166,33±1,23

Таблица 3 – Анализ динамики толщины подслизистой основы, мкм

Возраст бройлеров, сутки	Группы бройлеров в эксперименте			
	Контроль	Опыт №1	Опыт №2	Опыт №3
10	124,3±1,30	125,55±1,69	125,64±2,9	126,84±2,95
20	287,4±1,32	299,11±1,02	301,3±2,22	302,43±2,8
30	372,0±3,26	379,03±1,69	383,53±1,21	384,2±1,21
40	420,2±1,69	419,6±1,21	420,2±7,21	420,2±7,23

Таблица 4 – Анализ динамики толщины мышечной оболочки, мкм

Слои мышечной оболочки	Группа	Возраст бройлеров, сутки			
		10	20	30	40
Продольный	Контроль	36,54±0,30	46,55±0,62	60,85±0,55	65,79±0,35
	Опыт №1	37,23±1,90	47,55±1,05	61,10±0,90	73,79±1,23
	Опыт №2	37,38±0,92	48,12±1,23	62,35±0,62	74,15±1,37
	Опыт №3	38,22±0,44**	48,33±0,32	63,35±1,14	75,20±1,15
Кольцевой	Контроль	34,29±2,32	81,40±2,41	168,62±17,40	263,4±34,38
	Опыт №1	36,31±2,3	82,51±4,40	173,63±28,41	267,21±33,26
	Опыт №2	35,42±2,12	85,08±1,92	173,63±28,41	267,53±24,32
	Опыт №3	36,46±4,15	86,18±2,45	175,18±20,22	270,16±6,48

* - P<0,05; ** - P<0,01; *** - P<0,001.

Анализ в разрезе экспериментальных групп по отношению к группе контроль показывает превосходство значений в возрасте 20 и 30 суток именно в группах опыта. В возрастной период 40 суток видим, что толщина подслизистой основы практически одинакова во всех группах эксперимента.

В подслизистой основе выявлены секреторные отделы пищеводных желез. По строению железы сложные, разветвленные, альвеолярно-трубчатые. Их выводные протоки открываются на поверхность эпителия слизистой оболочки.

При сравнительной оценке диаметра пищеводных желез исследуемой части

пищевода так же отмечена тенденция максимальных значений у бройлеров группы опыт №3 как среди возрастных групп, так и групп, задействованных в эксперименте.

При анализе в динамике мышечной оболочки (табл. 4.), отметим увеличение толщины как продольного, так и кольцевого слоев в рамках постнатального онтогенеза во всех группах бройлеров в эксперименте. В разрезе экспериментальных групп по отношению к группе контроль видна тенденция превосходства значений, особенно у бройлеров группы опыт №3 как в толщине кольцевого, так и продольного слоев.

Анализируя показатель толщины адвентициального слоя (табл. 5.), следует отметить превосходство значений у бройлеров группы опыт №3 по сравнению с остальными группами в эксперименте и группы контроль по всем исследуемым возрастным периодам постнатального онтогенеза.

Таблица 5 – Анализ динамики толщины адвентициального слоя, мкм

Возраст бройлеров, сутки	Группы бройлеров в эксперименте			
	Контроль	Опыт №1	Опыт №2	Опыт №3
10	24,3±2,66	25,18±1,67	25,64±1,08	25,84±1,95
20	25,56±1,67	27,84±3,77	27,88±3,81	28,45±2,23
30	28,05±2,33	30,05±1,15	33,15±2,8	34,0±4,35
40	34,68±1,99	36,28±2,9	37,01±2,95	37,28±4,35

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, в результате проведенного эксперимента установлено, что включение в рацион энтеросорбента «Ковелос-Сорб» и биофлавоноида «Экостимул-2» оказало положительное влияние на гистометрические показатели толщины пищевода как в целом, так и слизистого, мышечного и адвентициального слоев, подслизистой основы, а также количество и диаметр желез подслизистой основы. Данная динамика наблюдалась в каждую декаду эксперимента, что свидетельствует о стимулирующем действии применяемых добавок на развитие шейного отдела пищевода у бройлеров, особенно третьей опытной группы.

FEATURES OF MICROANATOMY THE CERVICAL PART OF THE ESOPHAGUS OF THE ROSS-308 CROSS BROILERS UNDER THE INFLUENCE OF ENTEROSORBENT AND BIOFLAVONOID

Gorshkova E.V.* – PhD. Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Normal and Pathological Morphology and Physiology of Animals (ORCID 0009-0004-9156-7463); **Adelheim E.E. –** PhD. Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Normal and Pathological Morphology and Physiology of Animals (ORCID 0009-0003-2185-9375); **Bashina S.I.** – PhD. Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Normal and Pathological Morphology and Physiology of Animals (ORCID 0000-0002-4461-8924)

Bryansk State Agrarian University

* elena-valentina@yandex.ru

ABSTRACT

In industrial broiler farming, biologically active preparations are increasingly being used to increase the growth and development rates of poultry. The article presents the results of studies on the dynamics of the histological structures of the cervical part of the esophagus in Ross-308 broiler chickens during the period from the beginning of the rearing process to the technological slaughter period, using domestic feed additives (Kovelos-Sorb enterosorbent and Ecostimul-2 bioflavonoid) in addition to the main feeding regimen. Chicks in groups 1, 2, and 3 received Kovelos-Sorb at doses of 0.1-gram,

0.14 gram, and 0.18 gram per 1 kg of live weight per day, and Ecostimul-2 at a dose of 1 milligram per 1 kg of live weight per day. The experiment was conducted at the Department of Normal and Pathological Morphology and Physiology of Animals at the Bryansk State Agrarian University. The research method included the preparation of thin histological sections and the micrometry of the mucous, muscular, and adventitious layers, as well as the submucosal base of the cervical region. Dynamic changes were recorded every 10 days. The results of the micrometry were statistically processed and analyzed. As a result of the experiment, we noted that the bioadditives introduced into the main broiler diet had a positive effect on the histometric indicators of the thickness of the esophagus wall, both in general and in its layers, especially the submucosal base, as well as on the number and diameter of the glands of the submucosal base, in the direction of increase. The prevalence of micrometric structures was recorded in the birds of the experimental groups, especially the third group, in comparison with the control group, which indicates the stimulating effect of the applied additives on the development of the cervical part of the esophagus. An increase in the number of glands in the microscope field of view and the diameter of the submucosal glands in the experimental groups of broilers indicates a more active process of mucus secretion and its interaction with the feed than in the control group.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Москва. Медицина, 1990. 384 с.
2. Джамбулатова К.Д. Морфологические особенности двенадцатиперстной и тощей кишок цыплят-бройлеров (гипотрофиков) на фоне использования в рационе пробиотиков //Известия оренбургского государственного аграрного университета, 2017. № 2 (64). С. 235-239.
3. Гайсина Д.А. Функциональная морфология органов пищеварения цыплят при применении пробиотиков. автореферат по ВАК РФ 16.00.02, кандидат биологических наук . 2007, Уфа. 145 с.
4. 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 // Сельскохозяйственные животные, 2014. № 4. С. 16-17.
5. Донских П.П., Минченко В.Н. Постинкубационный морфогенез os tibia цыплят-бройлеров при введении в рацион БАВ // Сборник научных трудов международной научно-практической конференции «Современные тенденции развития аграрной науки». Брянский государственный аграрный университет. 2022. С. 884-891.
6. Микроскопическая техника: Руководство / под ред. Д. С. Саркисова, Ю.Л. Петрова. М.: Медицина, 1996. 544 с.
7. Минченко В.Н., Донских П.П. Влияние комбинации БАВ на морфологию суставного хряща головки бедренной кости цыплят-бройлеров в постинкубационном онтогенезе // Сборник трудов всероссийской (национальной) научно-практической конференции «Морфология в XXI веке: теория, методология, практика». Москва, 2021. С. 133-137.
8. Минченко В.Н., Донских П.П., Бас Е.Е. Морфофункциональные показатели цыплят бройлеров при включении в рацион диоксида кремния и биофлавоноида // Материалы Международной научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные проблемы биотехнологии и ветеринарной медицины» 14-15 декабря 2017 года. «Иркутский государственный аграрный университет имени А.А. Ежевского». 2017. С.17-24.
9. Мкртчян М.В., Титова О.В. Об импортозамещении на рынке мяса птица в России // Здоровье - основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. 2022. Т. 17, № 4. С. 1827-1832.
10. Полина С.И., Вертипрахов В.Г., Сергеенкова Н.А., Еременко В.В. Дуоденально-илеальное соотношение пищеварительных ферментов при использовании разных белковых добавок в рационе курнесушек. Международный вестник ветеринарии. 2023;(3). С. 145-155.
11. Полуянова И.Е. Биологическая актив-

ность гуминовых веществ, получаемых из торфа, и возможности их использования в лечебной практике. // Медицинские новости. 2017. № 7(724). С. 62-65.
12. Торшков А.А., Вишняков А.И. Изменение антиоксидантного статуса организма бройлеров под влиянием препарата «Экостимул-2» // Вестник ветеринарии. 2012. № 4 (63). С. 155-156.
13. Шацких Е.В., Королькова-Субботкина Д. Е. Развитие поджелудочной железы у цыплят-бройлеров при включении в рацион синбиотиков и фитобиотика // Аграрный вестник Урала Т. 23, № 10, 2023 г. С. 91 – 102.

REFERENCES

1. Avtandilov G.G. Medical morphometry. Moscow. Medicine, 1990. 384 p.
2. Dzhambulatova K.D. Morphological features of the duodenum and jejunum of broiler chickens (hypotrophics) against the background of the use of probiotics in the diet // Proceedings of the Orenburg State Agrarian University, 2017. No. 2 (64). pp. 235-239.
3. Gaisina D.A. Functional morphology of the digestive organs of chickens when using probiotics. Abstract on the Higher Attestation Commission of the Russian Federation 16.00.02, Candidate of Biological Sciences. 2007, Ufa. 145 p.
4. Gromina A.A., Pronin V.V., Dyumin M.S. Morphological assessment of the intestinal wall of Cobb 500 chickens against the background of antibiotic and probiotic use / Russian Veterinary Journal // Farm Animals, 2014. No. 4. pp. 16-17.
5. Donskikh P.P., Minchenko V.N. Postincubation morphogenesis of os tibia in broiler chickens when introduced into the diet of BAS // Proceedings of the international scientific and practical conference «Modern trends in the development of agricultural science». Bryansk State Agrarian University. 2022. pp. 884-891.
6. Microscopic technique: A guide / edited by D. S. Sarkisov, Yu.L. Petrov. M.: Medicine, 1996. 544 p.
7. Minchenko V.N., Donskikh P.P. The influence of a combination of BAS on the morphology of the articular cartilage of the femoral head of broiler chickens in postincubation ontogenesis // Proceedings of the All-Russian (national) scientific and practical conference «Morphology in the XXI century: theory, methodology, practice». Moscow, 2021. pp. 133-137.
8. Minchenko V.N., Donskikh P.P., Bas E.E. Morphofunctional parameters of broiler chickens when silicon dioxide and bioflavonoid are included in the diet // Proceedings of the International Scientific and Practical Conference of Young Scientists «Actual problems of biotechnology and veterinary medicine» December 14-15, 2017. Irkutsk State Agrarian University named after A.A. Yezhevsky. 2017. pp.17-24.
9. Mkrtchyan M.V., Titova O.V. On import substitution in the poultry meat market in Russia // Health is the basis of human potential: problems and solutions. 2022. Vol. 17, No. 4. pp. 1827-1832.
10. Polina S.I., Vertiprakhov V.G., Sergeenkova N.A., Eremenko V.V. Duodenal-ileal ratio of digestive enzymes in the use of various protein additives in the diet of laying hens. International Bulletin of Veterinary Medicine. 2023;(3). pp. 145-155.
11. Poluyanova I.E. Biological activity of humic substances obtained from peat and the possibility of their use in medical practice. // Medical news. 2017. No. 7(724). pp. 62-65.
12. Torshkov A.A., Vishnyakov A.I. Change in the antioxidant status of broilers under the influence of the drug «Ecostimul-2»// Bulletin of Veterinary Medicine. 2012. No. 4 (63). pp. 155-156.
13. Shatskikh E.V., Korolkova-Subbotkina D. E. Pancreatic development in broiler chickens when synbiotics and phytobiotics are included in the diet // Agrarian Bulletin of the Urals Vol. 23, No. 10, 2023, pp. 91-102.

УДК: 591.111.1:636.5.034
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2025.4.283

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ И ИНТЕНСИВНОСТЬ РОСТОВЫХ ПРОЦЕССОВ ЦЫПЛЯТ ПОД ВЛИЯНИЕМ КОМПЛЕКСА АМИНОКИСЛОТ

Присный А.А. *[1] – д-р биол. наук, глав. науч. сотр. Белгородского филиала ВИЭВ (ORCID 0000-0001-5229-8337); **Чуркина Я.В.**[2] **–** асп. каф. биологии (ORCID 0009 -0009-5398-8992)

[1] ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно - исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН»
[2] ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»)

*andreyprisny@gmail.com

Ключевые слова: *аминокислоты, цыплята, кровь, масса, длина тела.*
Key words: *amino acids, chickens, blood, weight, body length.*

Поступила: 31.07.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Цель исследования заключается в изучении морфофункциональных показателей крови и динамики весо-ростовых индексов цыплят при использовании комплекса аминокислот «Эргамин». Были сформированы две группы суточных петушков кросса Хайсекс-Браун – контрольная и опытная. Птицы контрольной группы получали сбалансированный по всем компонентам, основной рацион. Для цыплят опытной группы в дозе 10 г/л на протяжении первых десяти суток жизни дополнительно к основному рациону вводили комплекс аминокислот «Эргамин». Отбор крови осуществлен на первые, третьи, пятые, седьмые и девятые сутки после прекращения скармливания кормовой добавки. Взвешивание и измерение длины тела цыплят осуществляли один раз в двое суток до достижения животными 25-суточного возраста. По итогам рассчитаны весо-ростовые индексы: абсолютный прирост массы тела, относительный прирост массы тела, удельная скорость роста массы тела, индекс массивности. Анализ гематологических показателей крови свидетельствует об отсутствии отрицательного воздействия кормовой добавки на физиологическое состояние цыплят при выпаивании в первые десять суток жизни в дозе 10 г/л. Не выявлено угнетающего влияния на дыхательную функцию крови, при этом показан определенный рост показателей содержания гемоглобина и эритроцитов в крови. Изученные показатели белой крови характеризуют отсутствие отрицательного влияния исследуемого комплекса аминокислот на состояние иммунной системы цыплят. Использование кормовой добавки не приводит к развитию интоксикации и возникновению воспалительных процессов в организме животных опытной группы. К завершению эксперимента масса цыплят, получавших «Эргамин» была выше контрольных значений, в среднем, на 2,8 %.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Интенсивное развитие промышленного птицеводства требует повышения качества продукции без снижения объемов производства. Решение этой проблемы можно осуществить путем улучшения условий кормления [1]. Реализация генетического потенциала современных пород и кроссов сельскохозяйственной птицы зависит от качества кормления и условий содержания, а также тщательного соблюдения требований биологической и ветеринарной безопасности в условиях промышленного производства [2, 3, 4, 5, 6].

Цыплята характеризуются быстрыми темпами роста и развития, поэтому для них необходимо использовать рационы с высоким содержанием белка или аминокислот [7]. В фазе роста организмом цыпленка, в первую очередь, используются незаменимые аминокислоты. Обеспечение достаточного их содержания в рационе сельскохозяйственной птицы является приоритетной задачей при организации промышленного производства [8].

Результатом полноценного кормления цыплят является не только качество получаемой продукции, но и повышение уровня резистентности организма к патогенным воздействиям различного происхождения [9, 10, 11]. Важным аспектом является контроль физиологического состояния животных в ходе применения кормовых добавок.

Цель данного исследования – изучить морфофункциональные показатели крови цыплят и интенсивность весо-ростовых изменений при использовании комплекса аминокислот «Эргамин».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

По принципу аналогов, были сформированы две группы суточных петушков кросса Хайсекс-Браун – контрольная (50 голов) и опытная (50 голов). Птицы контрольной группы получали сбалансированный по всем компонентам, основной рацион. Для цыплят опытной группы в дозе 10 г/л на протяжении первых десяти суток жизни дополнительно к основному рациону вводили комплекс аминокислот «Эргамин».

Отбор крови осуществлен на первые, третьи, пятые, седьмые и девятые сутки после прекращения скармливания кормовой добавки.

При исследовании гематологических показателей определяли количество эритроцитов и лейкоцитов, гематокрит, цветной показатель, содержание гемоглобина, лейкоцитарную формулу, а также проводили расчет эритроцитарных и лейкоцитарных индексов. Количество эритроцитов и лейкоцитов подсчитывали с использованием камеры Горяева. Содержание гемоглобина – колориметрически гематиновым методом. Гематокрит определен расчетным методом по С.А. Акулову с соавт. Расчет лейкоформулы осуществлен в относительных и абсолютных значениях, после чего определены лейкоцитарные индексы: лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс, индекс Кребса (индекс соотношения нейтрофилов и лимфоцитов), лейкоцитарный индекс, лейкоцитарный индекс интоксикации, индекс сдвига лейкоцитов крови, индекс иммунореактивности.

Взвешивание и измерение длины тела цыплят осуществляли один раз в двое суток до достижения животными 25-суточного возраста. По итогам рассчитаны весо-ростовые индексы: абсолютный прирост массы тела, относительный прирост массы тела, удельная скорость роста массы тела, индекс массивности.

Статистическая обработка полученного цифрового материала осуществлена с использованием программы SPSS Statistic 17.0. В связи с небольшим объемом выборки статистическую значимость полученных результатов оценивали при помощи непараметрического критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Показатели системы крови безусловно важные и чрезвычайно лабильные характеристиками физиологического состояния организма в целом и различных функциональных систем в частности, которые с высокой скоростью и относительной точностью реагируют на введе-

ние в рацион различных кормовых добавок [12].

Анализ полученных результатов выявил нерегулярные изменения значений показателей системы эритрона цыплят, получавших кормовую добавку. Рост концентрации гемоглобина на 10 %, 11 % и 5 % больше на третий, пятый и седьмой день соответственно, а также числа эритроцитов в крови исследуемых цыплят, наблюдали в первый, третий, пятый и седьмой день после прекращения скармливания кормовой добавки, в группе опыта (на 15 %, 25 %, 26 % и 22 % свыше соответственно) (рис. 1-2).

В ходе эксперимента определено, что у цыплят группы опыта эритроцитарные индексы не изменились Выявлены статистически не значимые флуктуации показателей MCH и MCV.

Обращает на себя внимание положительная динамика содержания гемоглобина и эритроцитов, а также постоянство значений эритроцитарных индексов, что позволяет говорить о некотором позитивном влиянии изучаемой кормовой добавки на респираторную функцию крови.

Следует отметить, что достоверных отличий между абсолютным и относительным содержанием различных типов лейкоцитов в крови цыплят опытной группы, в сравнении с контрольными значениями, в ходе проведенного эксперимента не было выявлено.

Важным является отсутствие влияния комплекса аминокислот «Эргамин» на содержание в крови цыплят базофилов и эозинофилов, что свидетельствует об отсутствии выраженных аллергических реакций на кормовую добавку. Использование в рационе цыплят кормовой добавки не приводит к интоксикации организма животных опытной группы, что подтверждается отсутствием статистически значимых отличий значений изученных лейкоцитарных индексов в группе цыплят, получавших комплекс аминокислот, по сравнению с аналогичными показателями в группе контроля.

Следует отметить, что при дифференциальных подсчетах белых клеток крови серийные индексы, преимущественно, более информативны, чем изменение численности или, так называемый, «сдвиг влево».

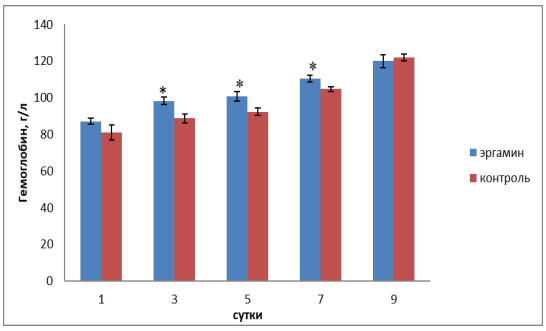


Рисунок 1 – Содержание гемоглобина в крови экспериментальных цыплят
** – статистически достоверные различия между значениями параметров по U-критерию Манна-Уитни при p<0,05.*

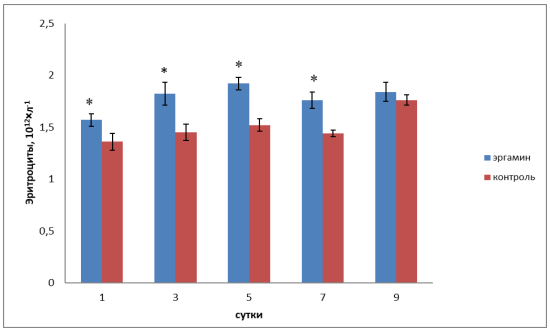


Рисунок 2 – Концентрация эритроцитов в крови экспериментальных цыплят
** – статистически достоверные различия между значениями параметров по U-критерию Манна-Уитни при p<0,05.*

Исследования весо-ростовых индексов цыплят при использовании комплекса аминокислот «Эргамин» показали наличие выраженной тенденции к увеличению этих показателей на протяжении всего эксперимента (таблица 1).

Следует отметить, что к завершению эксперимента масса цыплят, получавших «Эргамин» была выше контрольных значений, в среднем, на 2,8 %. Важно помнить, что продуктивные качества цыплят кросса Хайсекс Браун направлены на яйценоскость, но не на увеличение массы. Предполагаем, что использование «Эргамина» в качестве кормовой добавки для цыплят-бройлеров будет иметь более выраженный эффект, однако это требует дополнительных исследований.

Таблица 1 – Весо-ростовые индексы цыплят при использовании в рационе комплекса аминокислот «Эргамин»

Сутки	Группа	Абсолютный прирост массы тела, г	Относительный прирост массы тела, %	Удельная скорость роста массы тела, у.е.	Индекс массивности
3	контроль	3,12±0,30	7,09±0,67	0,07±0,01	0,06±0,001
	опыт	2,98±0,29	6,81±0,66	0,07±0,01	0,07±0,001
5	контроль	2,42±0,51	4,78±1,02	0,05±0,01	0,07±0,001
	опыт	3,06±0,39	6,09±0,78	0,06±0,01	0,07±0,001
7	контроль	4,98±0,56	8,87±0,99	0,09±0,01	0,08±0,001
	опыт	5,55±0,53	9,42±0,87	0,09±0,01	0,08±0,001
9	контроль	3,58±1,03	4,23±2,43	0,06±0,01	0,09±0,001
	опыт	5,19±0,71	7,48±1,04	0,07±0,01	0,09±0,001
11	контроль	6,11±0,79	7,92±1,06	0,08±0,01	0,10±0,001
	опыт	6,58±0,94	7,96±1,14	0,08±0,01	0,10±0,001
13	контроль	9,61±1,16	10,3±1,30	0,10±0,01	0,11±0,002
	опыт	11,75±1,39	12,6±2,18	0,11±0,01	0,12±0,001
15	контроль	7,50±1,13	6,30±0,96	0,06±0,01	0,13±0,002
	опыт	8,95±1,33	7,99±1,25	0,08±0,01	0,13±0,001
17	контроль	11,2±2,03	8,26±1,34	0,08±0,02	0,14±0,002
	опыт	11,4±1,84	8,38±1,61	0,08±0,01	0,14±0,002
19	контроль	17,8±1,99	10,6±1,18	0,11±0,01	0,16±0,003
	опыт	20,8±2,96	13,1±1,95	0,13±0,02	0,16±0,002
21	контроль	13,8±3,35	6,96±1,76	0,07±0,02	0,18±0,002
	опыт	15,3±2,04	7,66±0,99	0,08±0,01	0,18±0,002
23	контроль	14,1±3,99	6,23±1,76	0,06±0,02	0,18±0,005
	опыт	16,5±2,45	7,05±1,03	0,07±0,01	0,19±0,002
25	контроль	15,2±2,81	5,73±1,05	0,06±0,02	0,21±0,005
	опыт	16,8±4,45	6,49±1,77	0,06±0,01	0,21±0,003

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Результаты анализа гематологических показателей крови свидетельствуют об отсутствии отрицательного воздействия комплекса аминокислот «Эргамин» на физиологическое состояние цыплят при выпаивании в первые десять суток жизни в дозе 10 г/л. Использование комплекса аминокислот «Эргамин» не оказывает угнетающего влияния на дыхательную функцию крови, способствуя при этом определенному росту показателей содержания гемоглобина и эритроцитов в крови.

Лейкограмма, лейкоцитарные индексы эндогенной интоксикации, активности воспаления и неспецифической реактивности характеризуют отсутствие отрицательного влияния исследуемого комплекса аминокислот на состояние иммунной системы цыплят. Поступление кормовой добавки в организм и включение ее компонентов в метаболические процессы не вызывает интоксикации, стресс-реакций и воспалительных процессов в организме животных опытной группы.

Влияние «Эргамина» на динамику весо-ростовых индексов у цыплят яичного кросса не является показательным.

PHYSIOLOGICAL INDICATORS OF BLOOD AND THE INTENSITY OF GROWTH PROCESSES IN CHICKENS UNDER THE INFLUENCE OF AN AMINOACID COMPLEX

Prisnyi A.A.*[1] – Dr. Biol. Sci., Principal Researcher FGBNU "Federal Scientific Centre VIEV" (ORCID 0000-0001-9380-4136); **Churkina Y.V.**[2] – postgraduate student (ORCID 0009-0007-0768-0490)

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

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

*andreyprisny@gmail.com

ABSTRACT

The purpose of the study is to examine the morphofunctional indicators of blood and the dynamics of weight-growth indices of chickens when using the Ergamin amino acid complex. Two groups of day-old roosters of the Highsex-Brown cross were formed: a control group and an experimental group. The birds in the control group received a balanced main diet. For the chickens in the experimental group, the Ergamin amino acid complex was added to the main diet at a dose of 10 g/l for the first ten days of life. Blood samples were collected on the first, third, fifth, seventh, and ninth days after the feed additive was discontinued. The chicks were weighed and their body length was measured every two days until they reached 25 days of age. The results were used to calculate weight and growth indices, including absolute body weight gain, relative body weight gain, specific body weight growth rate, and body mass index. The analysis of hematological blood parameters indicates that the feed additive does not have a negative effect on the physiological state of the chicks when administered at a dose of 10 g/L during the first ten days of life. There is no inhibitory effect on the respiratory function of the blood, and there is a slight increase in the levels of hemoglobin and red blood cells in the blood. The studied white blood cell parameters indicate that the amino acid complex does not have a negative impact on the immune system of the chicks. The use of the feed additive does not lead to intoxication or inflammation in the experimental group of animals. By the end of the experiment, the weight of the chickens that received Ergamin was higher than the control values, on average, by 2.8%.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Плавинский, С.Ю. Оптимизация кормления цыплят в условиях Амурской области / С.Ю. Плавинский, В.А. Гогулов // Вестник аграрной науки. – 2023. – № 4 (103) – С. 93-99.

2. Джавадов, Э.Д. Особенности вакцинопрофилактики в промышленном птицеводстве / Э.Д. Джавадов, М.Е. Дмитрие-

ва // Птица и птицепродукты. – 2011. – № 5. – С. 37-39.
3. Дмитриева, М.Е. Ветеринарное благополучие в промышленном птицеводстве / М.Е. Дмитриева // Животноводство России. Спецвыпуск по птицеводству. – 2016. – С. 46-48.
4. Егоров, И.А. Ферментные препараты отечественного производства в низкоэнергетических комбикормах для цыплят-бройлеров / И.А. Егоров, Т.В. Егорова, А.И. Панин, М.А. Кержнер // Птицеводство. – 2021. – № 7-8. – С. 27-31. doi: 10.33845/0033-3239-2021-70-7-8-27-31.
5. Буяров, В.С. Технология содержания и кормления родительского стада мясных кур и цыплят-бройлеров / В.С. Буяров, А.В. Буяров, М.А. Талалаева, А.С. Мощанец // Биология в сельском хозяйстве. – 2023. – №2 (39). – С. 5-11.
6. Шацких, Е.В. Биологически активные добавки как альтернатива кормовым антибиотикам / Е.В. Шацких, А.И. Нуфер, Д.М. Галиев // Комбикорма. – 2020. – № 7 -8. – С. 76-78. doi: 10.25741/2413-287X-2020-07-4-112.
7. Kriseldi, R. Effects of feeding broilers reduced crude protein diets on growth performance, nitrogen excretion, and plasma uric acid concentration of broiler chicks during the starter period / R. Kriseldi, P.B. Tillman et al. // Journal of Poultry Science. – 2018. – Vol. 97. – P. 1614-1626. doi: 10.3382/ps/pex395.
8. Awad, E.A. Effect of low-protein diet, gender and age on the apparent ileal amino acid digestibilities in broiler chickens raised under hot-humid tropical condition / E.A. Awad, I. Zulkifli, A.S. Farjam et al. // Indian Journal of Animal Sciences. – 2016. – Vol. 86. – 696-701. doi:10.56093/ijans.v86i6.59233.
9. Битиева, И.А. Минеральный премикс как источник селена для цыплят бройлеров / И.А. Битиева, Б.Б. Бритаев // Перспективы развития АПК в современных условиях: Материалы 9-й Международной научно-практической конференции, 2020. – С. 171-174.
10. Егорова, А.В. Новый высокопродуктивный отечественный кросс мясных кур «Смена 9» / А.В. Егорова, Ж.В. Емануйлова, Д.Н. Ефимов, А.А. Комаров // Аграрная наука. – 2021. – № 7-8. – С. 33–36. doi: 10.32634/0869-8155-2021-351-7-8-33-36.
11. Zanu, H.K. Dietary calcium and meat and bone meal as potential precursors for the onset of necrotic enteritis / H.K. Zanu, S.K. Kheravii, R.A. Swick, M.R. Bedford // World's Poultry Science Journal. – 2020. – Vol. 76. – № 4. – P. 743-756. doi:10.1080/00439339.2020.1831419.
12. Волостнова, А.Н. Влияние скармливания добавки «стимул» на рост и продуктивность цыплят-бройлеров / А.Н. Волостнова, О. А. Якимов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2012. – Т. 209. – С. 82-86.

REFERENCES

1. Plavinsky, S.Yu. Optimization of Feeding Chickens in the Amur Region / S.Yu. Plavinsky, V.A. Gogulov // Bulletin of Agrarian Science. – 2023. – № 4(103). – P. 93-99. (In Russ.)
2. Javadov, E.D. Features of Vaccination in Industrial Poultry Farming / E.D. Javadov, M.E. Dmitrieva // Poultry and Poultry Products. – 2011. – № 5. – P. 37-39. (In Russ.)
3. Dmitrieva, M.E. Veterinary Welfare in Industrial Poultry Farming / M.E. Dmitrieva // Animal Husbandry of Russia. Special Issue on Poultry Farming. – 2016. – P. 46-48. (In Russ.)
4. Egorov, I.A. Domestic Enzyme Preparations in Low-Energy Feeds for Broiler Chicks / I.A. Egorov, T.V. Egorova, A.I. Panin, and M.A. Kerzhner // Poultry Farming. – 2021. – № 7-8. – P. 27-31. doi: 10.33845/0033-3239-2021-70-7-8-27-31. (In Russ.)
5. Buyarov, V.S. Technology of keeping and feeding of the parent flock of meat chickens and broiler chicks / V.S. Buyarov, A.V. Buyarov, M.A. Talalaeva, and A.S. Moshchanets // Biology in Agriculture. – 2023. – № 2 (39). – P. 5-11. (In Russ.)
6. Shatskikh, E.V. Biologically Active Supplements as an Alternative to Feed Antibiotics / E.V. Shatskikh, A.I. Nuffer, D.M.

Galiev // Compound Feeds. – 2020. – № 7-8. – P. 76-78. doi: 10.25741/2413-287X-2020-07-4-112. (In Russ.)
7. Kriseldi, R. Effects of feeding broilers reduced crude protein diets on growth performance, nitrogen excretion, and plasma uric acid concentration of broiler chicks during the starter period / R. Kriseldi, P.B. Tillman et al. // Journal of Poultry Science. – 2018. – Vol. 97. – P. 1614-1626. doi: 10.3382/ps/pex395.
8. Awad, E.A. Effect of low-protein diet, gender and age on the apparent ileal amino acid digestibilities in broiler chickens raised under hot-humid tropical condition / E.A. Awad, I. Zulkifli, A.S. Farjam et al. // Indian Journal of Animal Sciences. – 2016. – Vol. 86. – 696-701. doi:10.56093/ijans.v86i6.59233.
9. Bitieva, I.A. Mineral Premix as a Source of Selenium for Broiler Chicks / I.A. Bitieva, B.B. Britaev // Prospects for the Development of the Agro-Industrial Complex in Modern Conditions: Materials of the 9th International Scientific and Practical Conference, 2020. – P. 171-174. (In Russ.)
10. Egorova, A.V. New High-Productive Domestic Cross of Meat Chickens "Smena 9" / A.V. Egorova, Zh.V. Emanuilova, D.N. Efimov, and A.A. Komarov // Agrarian Science. – 2021. – №. 7-8. – P. 33–36. doi: 10.32634/0869-8155-2021-351-7-8-33-36. (In Russ.)
11. Zanu, H.K. Dietary calcium and meat and bone meal as potential precursors for the onset of necrotic enteritis / H.K. Zanu, S.K. Kheravii, R.A. Swick, M.R. Bedford // World's Poultry Science Journal. – 2020. – Vol. 76. – № 4. – P. 743-756. doi:10.1080/00439339.2020.1831419.
12. Volostnova, A.N. The effect of feeding the "stimulus" additive on the growth and productivity of broiler chickens / A.N. Volostnova, O.A. Yakimov // Scientific Notes of the N.E. Bauman Kazan State Academy of Veterinary Medicine. – 2012. – Vol. 209. – P. 82-86. (In Russ.)

УДК: 636.7:[591.8:591.431.4]
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.290

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЦЕТАБУЛЯРНОГО УГЛА НА ТАЗОВОЙ КОНЕЧНОСТИ У МОРСКИХ СВИНОК

Суслов Е.С.* – студ. 4 курса ФВМ (ORCID 0009-0002-3875-5428); **Мельников С.И.** – канд. ветеринар. наук, доц. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0002-0963-8751)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*theworst-mailever@mail.ru

Ключевые слова: *морские свинки, анатомия экзотических животных, ветеринарная рентгенология.*
Keywords: *guinea pigs, anatomy of exotic animals, veterinary radiology.*

Поступила: 08.10.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Морские свинки склонны к патологиям соединительной ткани, наиболее частыми являются: гериартрический артроз тазовых конечностей, алиментарный дефицит кальция, остеодистрофии, вызванные гиперпаратиреозом. Также к патологиям соединительной ткани предрасположены свинки с блестящей шерстью, обладающие геном «сатиновости». Наличие данного гена, уже к концу первого года жизни, вызывает у морских свинок патологии плотной волокнистой соединительной ткани, а также остеодистрофии, совокупность вышеописанных патологий у морских свинок с геном сатиновости назвали – синдром сатиновых свинок. Цель исследования – установить особенности строения тазовой конечности и определить значения ацетабулярного угла у клинически здоровых морских свинок и у свинок с подозрением на патологии соединительной ткани (хондро- и остеодистрофии). Материалом для исследования послужили морские свинки разного возраста, пола. Средний вес составил 700-800 грамм. Методы исследования: тонкое анатомическое препарирование, рентгенография, компьютерная томография. Определение ацетабулярного угла было проведено в программе «RadiAnt». Анализ полученных данных, показал, что измерения по ацетабулярному углу у морских свинок демонстрирует четкую возрастную динамику и высокую диагностическую ценность данного рентгенометрического показателя. У здоровых животных наблюдается увеличение угла с возрастом: у молодых особей (до 1,5 лет) его значения составляют в среднем 63,07-65,05°, тогда как у взрослых (от 1,5 до 4 лет) угол увеличивается до 66,17-69,39°. Однако наиболее значимые изменения регистрируются при патологиях опорно-двигательной системы, где ацетабулярный угол, напротив, становится более острым. Так, у морских свинок с подозрением на гиперпаратиреоз угол резко снижается, варьируя в пределах 49,32-57,92°, что сопровождается снижением рентгенологической плотности костей таза и конечностей, что характерно для деминерализации скелета. Еще более выраженная тенденция к «заострению» угла наблюдается

при синдроме сатиновых свинок (30,22-36,56°) и, особенно, у гериатрических животных (26,44-31,12°). У последних, помимо острейшего угла, рентгенологически отмечается повышение контрастности межсуставной щели, а клинически – характерная постановка тазовых конечностей, идущих краниолатерально.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Морские свинки (Cavia porcellus) – это вид млекопитающих из семейства свинковых, отряда грызуны. Морские свинки склонны к патологиям соединительной ткани (в основном, костей и плотной волокнистой соединительной ткани). Наиболее частыми патологиями для морских свинок являются: гериартрический артроз тазовых конечностей, алиментарный дефицит кальция, остеодистрофии, вызванные гиперпаратиреозом. Также к патологиям соединительной ткани предрасположены свинки с блестящей шерстью, обладающие геном «сатиновости». Наличие данного гена, уже к концу первого года жизни, вызывает у морских свинок патологии плотной волокнистой соединительной ткани, а также остеодистрофии, совокупность вышеописанных патологий у морских свинок с геном сатиновости назвали – синдром сатиновых свинок [1,2].

Ацетабулярный угол – это рентгенологический показатель, определяющий степень наклона тазобедренного сустава к срединной плоскости таза, этот показатель используется в медицине для диагностики развития костных структур у новорожденных. Адаптация определения ацетабулярного в ветеринарии, сможет улучшить рентгенологическую диагностику патологий опорно-двигательной системы морских свинок.

Цель исследования – установить особенности строения тазовой конечности и определить значения ацетабулярного угла у клинически здоровых морских свинок и у свинок с подозрением на патологии соединительной ткани (хондро- и остеодистрофии).

Необходимость такого измерения в ветеринарной практике обусловлена его объективностью и воспроизводимостью для диагностики и дифференциации распространенных патологий. В отличие от субъективной оценки «разряженности» костной ткани на рентгене, ацетабулярный угол представляет собой конкретный количественный параметр. Это позволяет ветеринарному специалисту не только подтвердить наличие дегенеративных или метаболических нарушений, таких как вторичный алиментарный гиперпаратиреоз, часто встречающийся у этих животных при несбалансированном рационе, но и оценить тяжесть структурных изменений тазобедренного сустава. Измерение угла помогает отличить возрастные (гериатрические) изменения от проявлений генетических патологий, например, синдрома сатиновых свинок, что критически важно для прогноза и консультирования владельцев [3-7].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводились на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» и ветеринарного центра «Котонай», г. Санкт-Петербург. Материалом для исследования послужили морские свинки разного возраста, пола. Средний вес, которых составил 700-800 грамм. Методы исследования: тонкое анатомическое препарирование, рентгенография, компьютерная томография. Определение ацетабулярного угла было проведено в программе «RadiAnt» [8-12].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

При проведении исследования было установлено, что скелет тазовой конечности морских свинок состоит из: двух безымянных костей (os coxae), каждая из которых образована слиянием подвздошной (os ilium), лонной (os pubis) и седалищной (os ischii) костей. На тазе данными костями образуется суставная впадина (acetabulum). Суставная впадина вместе с бедренной костью (os femoris) образуют тазобедренный сустав (art. coxae). Также на скелете тазовой конечности морских свинок визуализируют коленную чашку

(patella), скелет голени (skeleton cruris) (состоит из большой и малой берцовой кости, tibia, fibula) и скелет стопы (skeleton pedis).

Для выведения ацетабулярного угла в программе «RadiAnt» крайне важно выполнить правильную фиксацию морской свинки на рентгенологическом столе (Рисунок 1). Снимок выполняется в вентродорсальной проекции, тазовые конечности животного располагаются параллельно линии сетки коллиматора каудально. Конечности максимально разгибают в коленном суставе (art. genus), недопустимо отклонение их от срединной линии. Для определения ацетабулярного угла, в программе, проводят линии: первая линия – от латерального подвздошного бугра каудально, по срединной линии к большому вертелу (trochanter major) бедренной кости. Вторая линия – от большого вертела проводится по поперечной плоскости к основанию суставной впадины (acetabulum) (Рисунок 2).

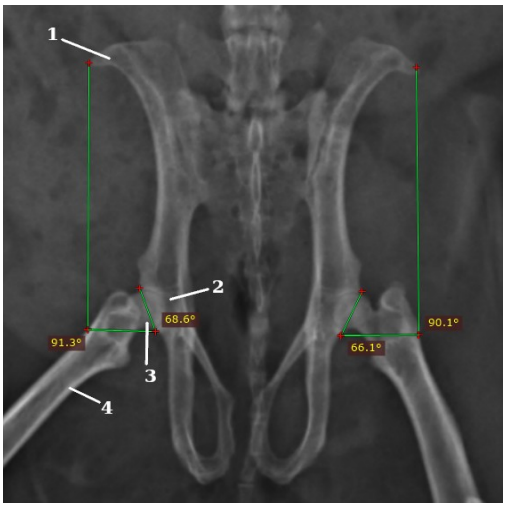


Рисунок 1 – Дорсовентральное положение тазобедренного сустава морской свинки.
1 — латеральный подвздошный бугор; 2 – вертлужная впадина; 3 – головка бедренной кости; 4 – бедренная кость.

Данный угол, при правильном положении тела морской свинки, должен составить 90±1,012°. При неправильном положении градус данного угла зачастую находится в диапазоне 56-79°. Третья линия – проводится от краниолатерального края головки бедренной кости (caput femoralis) к её каудомедиальному углу. От последний точки (каудомедиальный угол головки бедренной кости) проводится линия по поперечной плоскости к латеральной поверхности большого вертела (Рисунок 2).

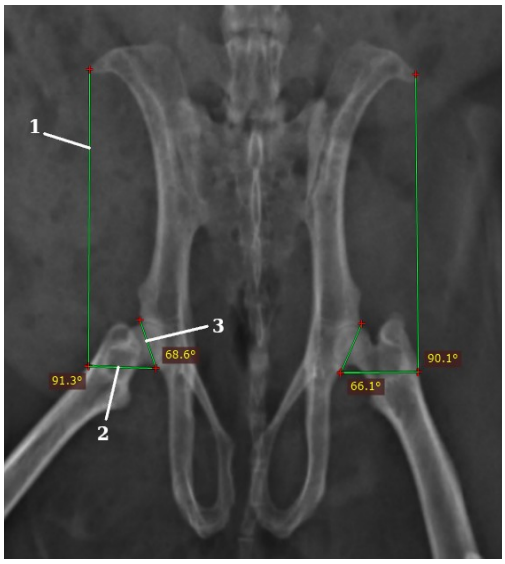


Рисунок 2 – Анатомические линии для определения ацетабулярного угла на тазовой конечности морской свинки. 1 – первая линия; 2 – вторая линия; 3 – третья линия.

Соединив вышеописанные линии, выводится ацетабулярный угол, который для разных возрастных групп имеет разные значения. Молодые морские свинки (в возрасте до 1,5 лет), составляет в среднем – 63,07-65,05°, у взрослых (от 1,5 лет до 4 лет) в среднем составляет – 66,17-69,39°.

У морских свинок, с подозрением на патологии соединительной ткани (гериатрические изменения (Рисунок 3), гиперпаратиреоз (Рисунок 4), синдром

сатиновых свинок (Рисунок5), помимо уменьшения рентгенологической плотности костей, увеличение межсуставной щели тазобедренного сустава, ацетабулярный угол будет более острым, чем у морских свинок, без подозрений на заболевания опорно-двигательной системы.

Полученные результаты, можно представить в виде таблицы (Таблица 1).

Таблица 1 – Морфометрия ацетабулярного угла на тазовой конечности у морских свинок в норме и при патологии

Группа морских свинок	Значение ацетабулярного угла (°)
Молодые морские свинки (в возрасте до 1,5 лет)	63,07-65,05
Взрослые морские свинки (от 1,5 лет до 4 лет)	66,17-69,39
Гериатрические морские свинки (>4 лет)	26,44-31,12
Свинки с гиперпаратиреозом	49,32-57,92
Свинки с синдромом сатиновых морских свинок	30,22-36,56

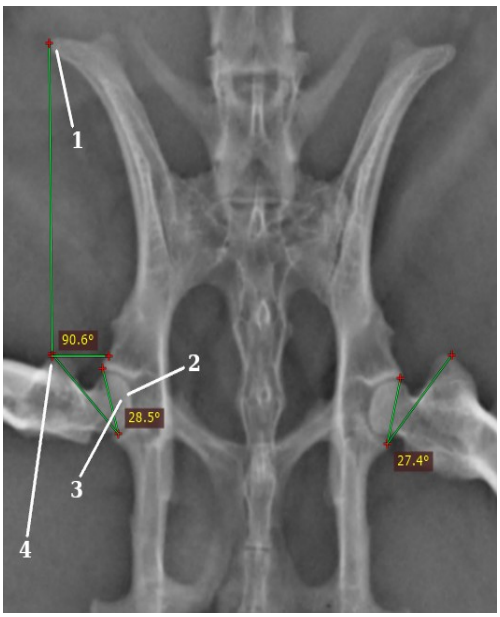


Рисунок 3 – Рентгенограмма тазобедренного сустава морской свинки с гериатрическими изменениями (артроз) (возраст 5 лет и 3 месяца)
1 – латеральный подвздошный бугор;
2 – вертлужная впадина; 3 – головка бедренной кости; 4 – бедренная кость.

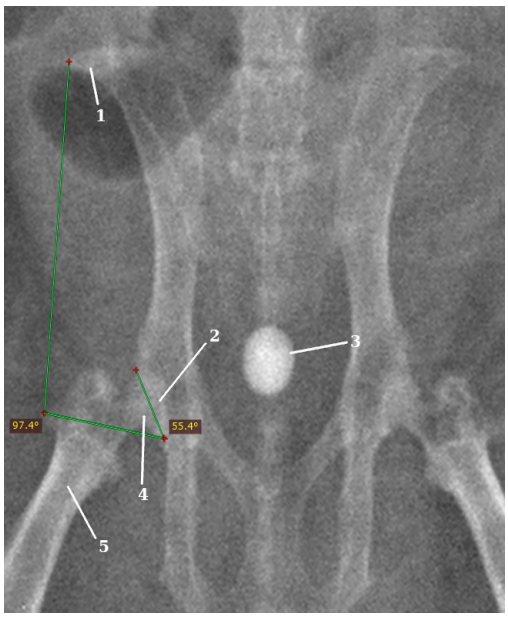


Рисунок 4 – Рентгенограмма тазобедренного сустава морской свинки с гиперпаратиреозом
1 – латеральный подвздошный бугор;
2 – вертлужная впадина; 3 – уролит;
4 – головка бедренной кости;
5 – бедренная кость.

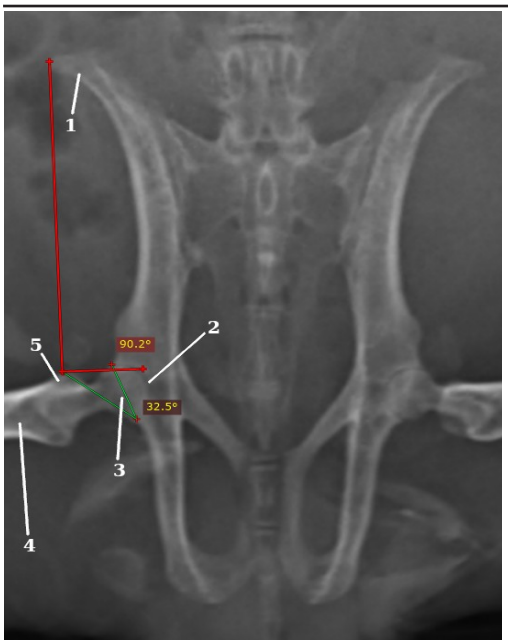


Рисунок 5 – Рентгенограмма тазобедренного сустава морской свинки с синдромом сатиновых свинок
1 – латеральный подвздошный бугор; 2 – вертлужная впадина; 3 – головка бедренной кости, 4 – бедренная кость, 5 – большой вертел бедренной кости.

Таким образом, у гериатрических морских свинок, угол будет самым острым, значения ацетабулярного угла будет варьировать от 26,44° до 31,12°. Помимо изменения угла также будет визуализироваться повышение рентгенологической контрастности области межсуставной щели. Во время внешнего осмотра, можно заметить, что тазовые конечности у гериатрических морских свинок идут краниолатерально.

У морских свинок, с подозрением (либо подтверждённым) гиперпаратиреозом, значение ацетабулярного угла варьирует от 49,32° до 57,92°. Помимо изменённого ацетабулярного угла сустава, возможна визуализация снижения рентгенологической плотности костей таза и тазовых конечностей.

При синдроме сатиновых морских свинок, ацетабулярный угол может принимать различные значения, в зависимости от возраста животного. Чаще всего, значения угла варьируют от 30,22° до 36,56°.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, анализ полученных данных, показал, что измерения по ацетабулярному углу у морских свинок демонстрирует четкую возрастную динамику и высокую диагностическую ценность данного рентгенометрического показателя. У здоровых животных наблюдается увеличение угла с возрастом: у молодых особей (до 1,5 лет) его значения составляют в среднем 63,07-65,05°, тогда как у взрослых (от 1,5 до 4 лет) угол увеличивается до 66,17-69,39°. Однако наиболее значимые изменения регистрируются при патологиях опорно-двигательной системы, где ацетабулярный угол, напротив, становится более острым. Так, у морских свинок с подозрением на гиперпаратиреоз угол резко снижается, варьируя в пределах 49,32-57,92°, что сопровождается снижением рентгенологической плотности костей таза и конечностей, что характерно для деминерализации скелета. Еще более выраженная тенденция к «заострению» угла наблюдается при синдроме сатиновых свинок (30,22-36,56°) и, особенно, у гериатрических животных (26,44-31,12°). У последних, помимо острейшего угла, рентгенологически отмечается повышение контрастности межсуставной щели, а клинически — характерная постановка тазовых конечностей, идущих краниолатерально.

Перспективы данного метода весьма обширны. Во-первых, накопление данных позволит создать стандартизированные рентгенометрические протоколы для морских свинок, что повысит точность диагностики в практике экзотических животных. Во-вторых, этот метод может быть использован для динамического мониторинга эффективности лечения, например, при коррекции рациона у животных с гиперпаратиреозом – положительная динамика будет выражаться в нормализации (увеличении) значения ацетабулярного

угла. В-третьих, существует потенциал для интеграции этого измерения в программное обеспечение современных цифровых рентгеновских аппаратов, где автоматическое вычисление угла могло бы стать инструментом скрининга. Таким образом, анализ ацетабулярного угла из чисто исследовательского метода может превратиться в рутинный, высокоинформативный и неотъемлемый элемент диагностического алгоритма при обследовании морских свинок с патологией тазобедренного сустава и костной системы в целом.

DETERMINATION OF THE ACETABULAR ANGLE ON THE PELVIC LIMB IN GUINEA PIGS

Suslov E.S.* – 4th-year student of the Faculty of Veterinary Medicine (ORCID 0009-0002-3875-5428); **Melnikov S.I.** – Candidate of Veterinary Sciences, Assistant Professor of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0000-0002-0963-8751)

Saint-Petersburg State Academy of Veterinary Medicine

*theworst-mailever@mail.ru

ABSTRACT

Guinea pigs are prone to connective tissue pathologies, the most common are: geriatric arthrosis of the pelvic extremities, nutritional deficiency of calcium, osteodystrophy caused by hyperparathyroidism. Also, pigs with shiny fur, possessing the "satin" gene, are predisposed to pathologies of connective tissue. The presence of this gene, by the end of the first year of life, causes pathologies of dense fibrous connective tissue in guinea pigs, as well as osteodystrophy, the combination of the above pathologies in guinea pigs with the satin gene was called satin pig syndrome. The aim of the study was to establish the structural features of the pelvic limb and determine the values of the acetabular angle in clinically healthy guinea pigs and in pigs with suspected connective tissue pathology (chondro- and osteodystrophy). Guinea pigs of different ages served as the material for the study, the average weight was 700-800 grams. Research methods: fine anatomical dissection, radiography, computed tomography. The acetabular angle was determined in the RadiAnt program. An analysis of the data obtained showed that measurements of the acetabular angle in guinea pigs demonstrate a clear age dynamic and a high diagnostic value of this radiometric indicator. In healthy animals, the angle increases with age: in young individuals (up to 1.5 years old) Its values average 63.07 -65.05°, whereas in adults (from 1.5 to 4 years old) the angle increases to 66.17-69.39°. However, the most significant changes are registered in pathologies of the musculoskeletal system, where the acetabular angle, on the contrary, becomes more acute. Thus, in guinea pigs with suspected hyperparathyroidism, the angle decreases sharply, varying between 49.32-57.92°, which is accompanied by a decrease in the radiological density of the pelvic and limb bones, which is characteristic of skeletal demineralization. An even more pronounced tendency to "sharpen" the angle is observed in satin pig syndrome (30.22-36.56°) and, especially, in geriatric animals (26.44-31.12°). In the latter, in addition to the sharpest angle, radiologically there is an increase in the contrast of the interarticular fissure, and clinically there is a characteristic setting of the pelvic limbs running craniolaterally.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Трегубова, Н. Морские свинки - биологические объекты научных исследований / Н. Трегубова, И. Исмаилов, М. Ткаченко // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2014. – № 5. – С. 66-71. – EDN ZDRQTR.

2. Акимова, М. А. Морские свинки в доклинических исследованиях, оптимальные характеристики тест-системы / М. А. Акимова, Д. Ю. Акимов // Лабораторные животные для научных исследований. – 2021. – № 1. – С. 78-85. – DOI 10.29296/2618723X-2021-01-08. – EDN GDXKZF.

3. Мельников, С. И. Артериальное кровоснабжение области бедра и голени шин-

шиллы длиннохвостой // Актуальные вопросы науки и хозяйства: новые вызовы и решения: сборник материалов LIII международной студенческой научно-практической конференции, Тюмень, 29 марта 2019 года. Т. 1. Тюмень: Государственный аграрный университет Северного Зауралья, 2019. С. 25-28.

4. 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.

5. Рыбалкин, С. М. Кранио-латеральный и латеральный доступы к тазобедренному суставу с остеотомией большого вертела / С. М. Рыбалкин, М. В. Щипакин // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства: Международная научно-практическая конференция, посвященная памяти доктора биологических наук, профессора, Заслуженного работника Высшей школы РФ, Почётного работника высшего профессионального образования РФ, Почётного профессора Брянской ГСХА, Почётного гражданина Брянской области Егора Павловича Ващекина, Брянск, 22 января 2024 года. – Брянск: Брянский государственный аграрный университет, 2024. – С. 117-120. – EDN VCQIQP.

6. Стратонов, А. С. Анатомо-топографическое обоснование доступа к костям таза путем проведения остеотомии большого вертела бедренной кости у собак / А. С. Стратонов, М. В. Щипакин // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 4. – С. 380-387.

7. Поплавская К.Д. Рентгеноанатомия свободного отдела тазовой конечности щенков / К.Д. Поплавская, Д.С. Былинская // Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны: материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, Санкт-Петербург, 19-20 ноября 2019 года. СПб.: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2019. - С. 229-231.

8. Скелетотопия и морфометрия основных артериальных магистралей тазовой конечности рыси евразийской (lynx Euroasian) / Д. С. Былинская, М. В. Щипакин, С. В. Вирунен [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2016. – № 3. – С. 192-195.

9. Рыбалкин, С. М. Анатомо-топографическое обоснование различных доступов к проксимальному эпифизу большеберцовой кости / С. М. Рыбалкин, М. В. Щипакин, С. И. Мельников // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 1. – С. 224-232. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.1.224.

10. 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. 9497.

11. 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.

12. Щипакин, М. В. Возрастные закономерности васкуляризации органов тазовой конечности и тазовой полости хоря золотистого: автореф. дис…канд. ветеринарных наук: специальность 16.00.02/ Щипакин Михаил Валентинович. - Санкт-Петербург, 2007. -17 с. EDN NIZGDJ

REFERENCES

1. Tregubova, N. Guinea pigs - biological objects of scientific research / N. Tregubova, I. Ismailov, M. Tkachenko // Veterinary

medicine of farm animals. – 2014. – No. 5. – pp. 66-71. – EDN ZDRQTR.
2. Akimova, M. A. Guinea pigs in preclinical studies, optimal characteristics of the test system / M. A. Akimova, D. Y. Akimov // Laboratory animals for scientific research. – 2021. – No. 1. – pp. 78-85.
3. Melnikov, S. I. Arterial blood supply to the thigh and shin area of the long-tailed chinchilla // Actual issues of science and economics: new challenges and solutions: proceedings of the LIII International Student Scientific and Practical Conference, Tyumen, March 29, 2019. Vol. 1. Tyumen: State Agrarian University of the Northern Urals, 2019. pp. 25-28. EDN YVGJRL.
4. Shchipakin, M. V. Morphometry of the femur, tibia and fibula of the common otter / M. V. Shchipakin, D. V. Vasiliev // Actual problems of intensive development of animal husbandry: proceedings based on the materials of the international scientific and practical conference dedicated to the 90th anniversary of the birth of Egor Pavlovich Vashchekin, 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, Bryansk, January 24, 2023. Bryansk: Bryansk State Agrarian University, 2023, pp. 351-354.
5. Rybalkin, S. M. Cranio-lateral and lateral access to the hip joint with osteotomy of the large trochanter / S. M. Rybalkin, M. V. Shchipakin // Actual problems of intensive development of animal husbandry: International Scientific and Practical conference dedicated to the memory of Egor Pavlovich Vashchekin, 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, Bryansk, January 22, 2024. Bryansk: Bryansk State Agrarian University, 2024. pp. 117-120. EDN VCQIQP.
6. Stratonov, A. S. Anatomical and topographic justification of access to pelvic bones by osteotomy of the greater trochanter of the femur in dogs / A. S. Stratonov, M. V. Shchipakin // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2024. – No. 4. – pp. 380-387.
7. Poplavskaya K.D. X-ray anatomy of the free pelvic limb of puppies / K.D. Poplavskaya, D.S. Bylinskaya // Knowledge of the young for the development of veterinary medicine and the agroindustrial complex of the country: proceedings of the international scientific conference of students, postgraduates and young scientists, St. Petersburg, November 19-20, 2019. St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine Medicine, 2019. - pp. 229-231.
8. Skeletotopy and morphometry of the main arterial highways of the pelvic limb of the Eurasian lynx (lynx Euroasian) / D. S. Bylinskaya, M. V. Shchipakin, S. V. Virunen [et al.] // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. – 2016. – No. 3. – pp. 192-195. – EDN WMJVRN.
9. Rybalkin, S. M. Anatomical and topographic substantiation of various accesses to the proximal epiphysis of the tibia / S. M. Rybalkin, M. V. Shchipakin, S. I. Melnikov // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2024. – No. 1. – pp. 224-232.
10. Slesarenko, N. A. Structural adaptogenesis of the skeleton of animal limbs with various statolocomotion / N. A. Slesarenko, E. K. Gasanguseynova, E. O. Shirokova // Proceedings of the Orenburg State Agrarian University. - 2013. - № 5(43). - P. 9497.
11. Yavolovskaya, Ya. O. The skeleton of the pelvic limb girdle of the black Pushkin breed sable in the age aspect / Ya. O. Yavolovskaya, M. V. Shchipakin // Hippology and veterinary medicine. – 2023. – № 1(47). – Pp. 118-128.
12. Shchipakin, M. V. Age-related patterns of vascularization of the organs of the pelvic limb and pelvic cavity of the golden horus: abstract of the dissertation of the cand. Veterinary Sciences: specialty 16.00.02/ Shchipakin Mikhail Valentinovich. - St. Petersburg, 2007. -17 p.

УДК: 636.5.087
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.298

ИЗУЧЕНИЕ ТАКСОНОМИЧЕСКОГО И ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПРОФИЛЯ МИКРОБИОМА КИШЕЧНИКА БЕЛОЙ КУРОПАТКИ

Филатов А.В.[1, 2] * – д-р ветеринар. наук, проф., вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-4557-844X); **Николаев С.В.**[1] – кан. ветеринар. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-5485-4616); **Лаптев Г.Ю.**[3, 4] – д-р биол. наук (ORCID 0000-0002-8795-6659); **Ильина Л.А.**[3, 4] – д-р биол. наук (0000-0003-2789-4844)

[1] Институт агробиотехнологий им. А.В. Журавского Коми научного центра УрО РАН
[2] ФГБОУ ВО «Вятский государственный агротехнологический университет»
[3] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет»
[4] ООО «БИОТРОФ»

*fav6819@yandex.ru

Ключевые слова: *белая куропатка, микробиом кишечника, метаболический потенциал, NGS-секвенирование, PICRUSt2, перспективные пробиотические штаммы.*
Key words: *willow grouse, gut microbiome, metabolic potential, NGS sequencing, PICRUSt2, promising probiotic strains*

Поступила: 25.09.2023 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Одной из характерных особенностей физиологии пищеварения белой куропатки *(Lagopus lagopus)*, является увеличенный по сравнению с представителями других семейств слепой отдел кишечника. Целью настоящего исследования является анализ таксономического и метаболического состава микробиоты кишечника белой куропатки с использованием современных молекулярно-генетических методов, в частности NGS-секвенирования. Объектом исследования послужило содержимое подвздошной кишки и слепых отростков кишечника белой куропатки, добытой в зимний период на территории Малоземельской тундры Ненецкого автономного округа. Результаты исследований продемонстрировали целый спектр отличий, связанных с таксономическим и функциональным разнообразием микробиоты тонкой и толстой кишки белой куропатки. При этом в слепых отростках птиц отмечалось существенно более высокое количество бактерий с целлюлозолитическими свойствами (семейств *Clostridia vadinBB60, Oscillospiraceae, Lachnospiraceae*). Этот факт может представлять интерес в контексте поиска штаммов микроорганизмов для разработки биопрепаратов с пробиотическими и ферментативными свойствами. Также в кишечнике белой куропатки детектированы представители условно-патогенной микробиоты (семейств *Streptococcaceae* и *Helicobacteraceae)*, часто вызывающей заболевания на фоне ослабления иммунитета. В слепых отростках по сравнению с подвздошной кишкой наблюдалось более высокое коли-

чество метаболических путей, ассоциированных с энергетическим обменом (FUCRHAMCAT-PWY (p≤0,005), FUCCAT-PWY (p≤0,001), GLUCUROCAT-PWY (p≤0,005)), антиоксидантной активностью (NAD-BIOSYNTHESIS-II (p≤0,005), PYRIDNUCSALPWY, PYRIDNUCSYN-PWY, PYRIDOXSYN-PWY (p≤0,05)), биосинтезом витаминов и кофакторов. Результаты проведенных исследований указывают на значительный метаболический потенциал микробиома кишечника белой куропатки, особенно его в слепых отростках.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Белая куропатка (*Lagopus lagopus*) имеет широкий ареал обитания в северных широтах, включая тундру и тайгу Северного полушария. Данный вид обитает на открытых пространствах и тесно связан с кустарниковой растительностью, которая служит основным источником питания на протяжении всего года. В зимний период куропатки находятся в крайне суровых климатических условиях, осуществляют миграционные перемещения и сталкиваются с дефицитом растительного корма, а также с ухудшением его качественных характеристик. Зимой питание белой куропатки ограничено преимущественно несколькими видами ив и берез и зависит от зональных особенностей ареала обитания [1-3]. Наиболее привлекательным для них является однолетний ивовый подрост диаметром 1,5-2,5 мм, при недоступности которого они переходят на питание веточками более крупных 3-4-летних ивовых и чозениевых кустов. По данным А.В. Андреева [4], питательность зимнего корма зависит не только от его калорийности, но и от способности организма птицы его усваивать. Эффективность использования растительных кормов в зимний период белой куропаткой обеспечивается за счет особенностей пищеварительной системы, присущих тетеревиным, у которых имеется объемистый зоб, хорошо развитый мускульный желудок и слепая кишка. В пищеварительной системе куропаток имеется своеобразный распределительный узел, где сходятся тонкая, слепая (два слепых отростка) и прямая кишка. Все непереваренное содержимое тонкой кишки продвигается в прямую кишку и выводится из нее в виде экскрементов. Жидкое содержимое поступает в слепую кишку для дальнейшего переваривания и всасывания. При этом слепая кишка занимает больше половины объема брюшной полости.

Тем не менее, особенности пищеварения белой куропатки, обитающей в экстремальных условиях Арктики, изучены фрагментарно, а имеющиеся данные нередко противоречивы, что подчеркивает необходимость детального исследования ее кишечного микробиома. Изучение состава и функциональных особенностей кишечной микробиоты является фундаментальной основой для выделения перспективных изолятов с пробиотическим потенциалом и последующего создания на их основе высокоэффективных кормовых добавок для повышения продуктивности и резистентности сельскохозяйственных животных.

Целью данного исследования являлось изучение таксономического и метаболического состава микробиоты слепых отростков и подвздошной кишки белой куропатки в зимний период с использованием молекулярно-генетического метода NGS-секвенирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объектом исследования являлись образцы содержимого подвздошной и слепой кишки белой куропатки (n=3), добытых в зимний период на территории биогеографического региона Малоземельской тундры Ненецкого автономного округа. Образцы были отобраны с соблюдением асептических условий и заморожены при температуре -20°C, после чего транспортированы в молекулярно-генетическую лабораторию компании «БИОТРОФ» в криоконсервированном состоянии для дальнейшего анализа.

Тотальную ДНК из исследуемых образцов выделяли с использованием набора Genomic DNA Purification Kit

(«Fermentas, Inc.», Литва) согласно прилагаемой инструкции. Бактериальное сообщество слепой и подвздошной кишки белой куропатки оценивали методом NGS -секвенирования на платформе MiSeq (Illumina, Inc., США) с праймерами для V3-V4 региона гена 16S рРНК. В исследованиях использовалась следующая нуклеотидная последовательность для прямого праймера: 5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3'; для обратного праймера: 5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC-3'. ПЦР проводили при следующих условиях: 3 мин. при 95°С; 30 с. при 95°С, 30 с. при 55°С, 30 с. при 72°С (необходимо для удлинения последовательности) (25 циклов); 5 мин. при 72°С (окончательная элонгация). Секвенирование осуществляли с реагентами для подготовки библиотек Nextera® XT IndexKit (Illumina, Inc.), Очистку продуктов полимеразной цепной реакции проводили реагентом Agencourt AMPure XP производства (Beckman Coulter, Inc, США). Для выполнения секвенирования использовался набор MiSeq® ReagentKit v2 (500 циклов) компании (Illumina, Inc). Оценку библиотеки осуществляли с применением набора для высокочувствительного анализа ДНК / High Sensitivity DNA Kit (Agilent, США) на приборе биоанализатор Agilent 2100 (Agilent, США). Максимальная длина полученных последовательностей составила 2½250 п.

Биоинформатический анализ данных выполняли с помощью программного обеспечения QIIME2 v. 2020.8 (https://docs.qiime2.org/2020.8/). Фильтрацию шумовых последовательностей осуществляли с применением встроенного в программный пакет QIIME2 метода DADA2. Данный метод интегрирует информацию о качестве в модель ошибок, что обеспечивает устойчивость алгоритма к последовательностям более низкого качества. Таксономическую классификацию проводили с помощью базы данных Silva 138.1 (https://www.arb-silva.de/documentation/release-138.1/). В прогнозировании функциональных характеристик микробиомов на основании данных о их таксономическом составе была применена программа PICRUSt2. Выбранная программа использует таксономические данные для генерации функциональных профилей микробных сообществ, опираясь на базы данных KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) и MetaCyc для идентификации функциональных генов.

Полученные данные подвергнуты статистическому анализу с применением программного пакета Microsoft Office Excel 2013. Статистическая значимость различий установлена при $p<0,05$ с применением t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ/ RESULTS

При анализе микробного сообщества кишечника белой куропатки методом NGS-секвенирования было сгенерировано в общей сложности 55,193 последовательностей гена 16S рРНК с медианой считываний 13,330; min = 10,673, max = 17,860. В составе микробиома содержимого кишечника присутствовало 15 бактериальных филумов и суперфилумов, среди которых доминирующими были представители *Firmicutes, Cyanobacteria* и *Bacteroidota*. На рисунке 1 представлен график пяти наиболее распространенных филумов по средним значениям в группе. Представляется очевидным, что указанные доминирующие бактерии играют ключевую роль в метаболизме основных компонентов рациона, таких как целлюлоза, гемицеллюлоза, крахмал, органические кислоты и белки. Они преобразуют эти вещества в промежуточные энергетические субстраты, которые затем абсорбируются в кишечнике [5].

Между таксономическим составом слепых отростков и подвздошной кишки наблюдались ярко выраженные отличия, что, по-видимому, обусловлено их функциональностью. Ранее сообщалось, что слепые отростки кишечника птиц вовлечены в процессы ферментации и расщепления клетчатки, а остальные отделы кишечника (тощая, подвздошная кишка) – преимущественно участвуют во всасыва-

нии воды и электролитов [6]. Установлено, что у тетеревиных птиц разложение клетчатки происходит в слепых кишках под действием секрета специальных желез и бактериальной микробиоты. При этом согласно исследованиям Потапова [7], численность бактериальных микроорганизмов в тонком отделе и слепых отростках не различается.

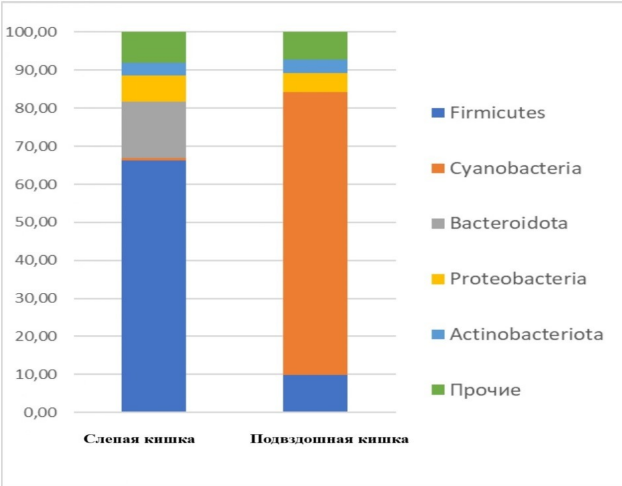


Рисунок 1 – Состав микробиома образцов содержимого кишечника птиц, на уровне наиболее представленных бактериальных филумов и суперфилумов (по данным NGS-секвенирования ампликонов гена 16S рРНК).

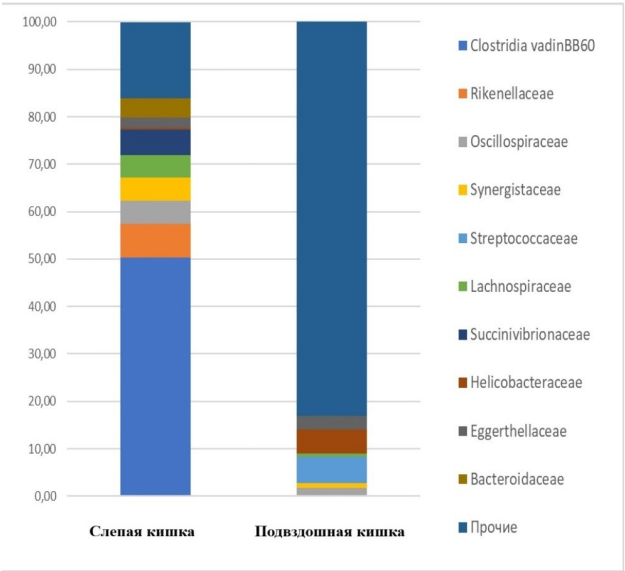


Рисунок 2 – Состав микробиома ЖКТ белой куропатки на уровне бактериальных семейств (по данным NGS-секвенирования ампликонов гена 16S рРНК).

По результатам NGS-секвенирования наиболее значимые отличия, детектируемые между различными анализируемыми участками ЖКТ, наблюдались в представленности таксона *Firmicutes*: в слепых отростках кишечника в среднем их доля составляла 66,24±7,8%, а в подвздошной – 9,91±0,5%. Представители данного филума преимущественно играют важную роль в переваривании и усвоении компонентов корма из рациона. Бактерии из филума *Bacteroidota*, чьи функции тради-

ционно ассоциируются с ферментативными и метаболическими процессами [5], также продемонстрировали высокую концентрацию в образцах из слепой кишки, в то время как в тонком кишечнике данные микроорганизмы не были обнаружены.

Интересно, что в подвздошной кишке белой куропатки доминирующими были бактерии филума *Cyanobacteria*, где их среднее содержание составляло 74,36±7,4%, в отличие от слепых отростков кишечника, в котором их концентрация была минорной. Согласно имеющимся данным, *Cyanobacteria* могут вступать в симбиотические отношения с другими микроорганизмами, что обеспечивает условия для формирования более разнообразного микробиома и увеличивает его функциональность [5].

При более детальном рассмотрении, до уровня семейств, наблюдалась аналогичная картина схожего микробного пейзажа (рис.2). В частности, следует отметить высокое содержание в слепой кишке целлюлозолитических бактерий семейства *Clostridia vadinBB60*, уровнь которых составлял 50,25±11,5%, при этом в тонком отделе ЖКТ они не были идентифицированы. Известно, что бактерии этого семейства отвечают за метаболизм сложных углеводов и других органических веществ, содержащихся в корме, и производят различные короткие цепочки жирных кислот, которые могут использоваться организмом в качестве источника энергии.

Представители других целлюлозолитических бактерий, таких как семейства *Oscillospiraceae* и *Lachnospiraceae*, также были обнаружены в большем относительном количестве в слепой кишке по сравнению с тонким отделом. В частности, доля представителей *Oscillospiraceae* составляла в среднем 5,01±2,45% и 1,82±2,57%, а таксона *Lachnospiraceae* 4,84±0,27% и 0,67±0,95%, в содержимом слепых отростков и подвздошной кишки, соответственно [5]. В целом, высокое присутствие в слепой кишке бактерий с ферментативными свойствами в отношении различных питательных соединений, может свидетельствовать о более эффективном микробном метаболизме кормов, способствующему лучшему усвоению питательных веществ из корма, что особенно важно для видов птиц, питающихся растительной пищей. Высокое разнообразие в кишечнике белой куропатки бактерий с широким ферментативным и метаболическим потенциалом вызывает интерес в аспекте выделения штаммов для поиска и разработки биопрепаратов-пробиотиков с ферментативными свойствами.

В содержимом тонкой кишки, в отличие от слепой, детектировались представители нежелательной микрофлоры, а именно *Streptococcaceae* и *Helicobacteraceae*, содержание которых составило 5,67±6,38% и 5,09±7,2%, соответственно. В образцах химуса из слепых отростков бактерии семейства *Helicobacteraceae* обнаруживались в минорных количествах (0,24±0,34%), а *Streptococcaceae* отсутствовали. Стоит отметить, что некоторые представители этих семейств могут обусловливать воспалительные заболевания ЖКТ (гастрит, энтерит, колит, язвенные поражения), особенно на фоне ослабления иммунитета.

При проведении анализа для предсказания метаболических путей и функциональной аннотации с применением программного обеспечения PiCRUSt2, была получена информация о 318 различных последовательностей метаболизма (рисунок 3 и 4). Большая их часть, особенно детектируемых в образцах слепых отростков кишечника, были связаны с ферментативными свойствами, в частности с метаболическими путями усвоения питательных веществ.

Как показано на рисунке 3, большее количество детектированных метаболических путей, связанных с углеводным обменом, присутствовало в содержимом слепых отростков, в то время как у микробиоты химуса тонкого отдела кишечника преимущественно определялись пути деградации лактозы, галактозы и фенилацетата (LACTOSECAT-PWY, PWY0-321). Известно, что среди тетеревиных птиц,

пищеварение у белой куропатки в большей степени зависит от активности микроорганизмов. Подтверждением служат исследования некоторых авторов, согласно которым в экскрементах белой куропатки содержание энергии было на 26-40% ниже, чем у других представителей этого семейства [4]. На основании косвенных данных, включающих морфологическое строение, ферментативную активность, химический состав содержимого, а также динамику заполнения и опорожнения слепых отростков, предполагается, что в них происходит наиболее важный этап пищеварения у куропаток. Именно в данном отделе наблюдается расщепление и усваивание многих питательных элементов, содержащихся в грубом веточном корме, а также нейтрализуются токсичные компоненты древесных смол [9].

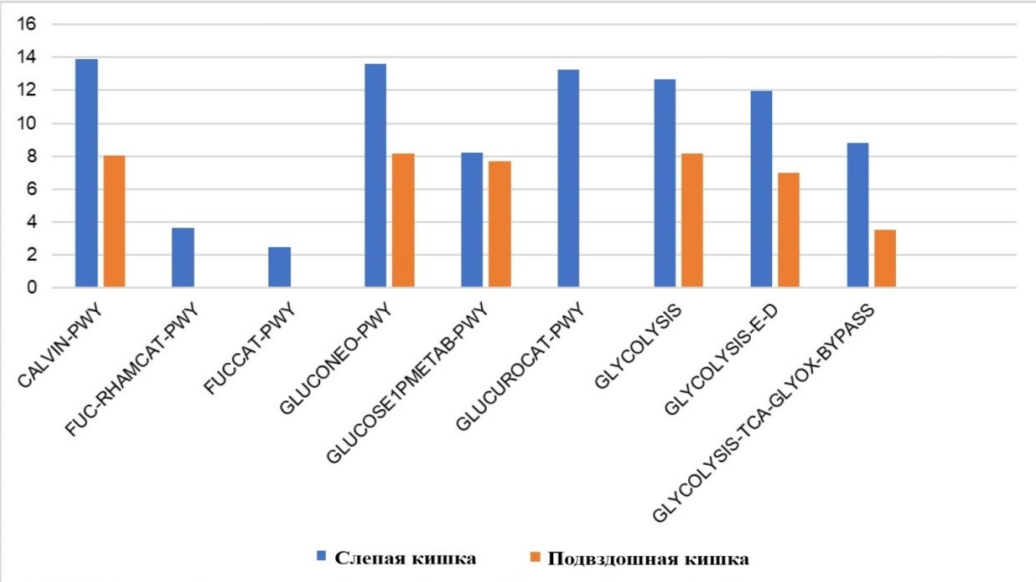


Рисунок 3 – Функциональный состав микробиома ЖКТ белой куропатки. Пути углеводного обмена (по данным NGS-секвенирования ампликонов гена 16S рРНК).

Также ранее было продемонстрировано, что в слепых отростках птицы содержится наибольшее количество микроорганизмов по сравнению с другими отделами пищеварительной системы. Они являются основным резервуаром для микробного разложения клетчатки и синтеза летучих жирных кислот, также в них протекают различные ферментативные процессы [9, 10]. Ведущая роль в разрушении клетчатки принадлежит микроорганизмам. При этом белая куропатка при недостаточно полноценном рационе способна усваивать до 20% целлюлозы корма [11], а по некоторым исследованиям до 27,7-36,8% [12].

При изучении биоэнергетики тетеревиных птиц было высказано предположение, что слепые отростки дополняют работу тонкой кишки, а ее функциональная деятельность зависит от сезона года. В полном объеме функциональные возможности слепой кишки реализуются в наиболее суровые периоды года. Слепые отростки в широких пределах изменяют коэффициент усвоения корма при его одинаковом суточном потреблении, что свидетельствует о более полном его усвоении в организме птиц [13]. В летний период слепые отростки птицы почти не

функционируют [7].

В нашем исследовании разнообразие метаболических путей по данным функциональной аннотации оказалось напрямую взаимосвязано с таксономическим составом в слепых отростках и подвздошной кишке. При этом более высокое разнообразие таксономического состава в слепых отростках сопровождалось и более высоким метаболическим профилем. В микробиоме слепых отростков по сравнению с подвздошной кишкой наблюдалось достоверно более высокое относительное количество генов, ассоциированных с метаболическими путями, обуславливающими деградацию фукозы и рамнозы (FUC-RHAMCAT-PWY) – в 182 раза ($p \leq 0{,}005$), фукозы (FUCCAT-PWY) – в 49,8 раза ($p \leq 0{,}001$), β-D-глюкуронида и D -глюкуроната (GLUCUROCAT-PWY) – в 132 раза ($p \leq 0{,}005$).

Помимо этого, большее количество генов микробиоты слепой кишки было связано с другими процессами углеводного и энергетического обмена. Метаболический путь глюконеогенеза GLUCONEO -PWY, который обеспечивает синтез глюкозы из несахарных углеродных источников, таких как пируват, (S)-лактат, глицерин и глюкогенные аминокислоты (прежде всего L-аланин и L-глутамин) у микроорганизмов, обитающих в слепых отростках, оказался в 1,7 раза активнее по сравнению с данными, полученными по подвздошной кишке. Путь CALVIN-PWY, относящийся к циклу Кальвина-Бенсона-Бассама, используемый некоторыми бактериями для фиксации углерода, эффективно преобразуя углекислый газ в органические соединения, так же в слепых отростках был в 1,7 раза более выражен. Пути GLYCOLYSIS-E-D и GLY-COLYSIS в 1,7 и 1,6 раза превосходили показатели, полученные по тонкой кишке, соответственно. В то же время количество генов пути GLUCOSE1PMETAB-PWY, задействованного в метаболизме глюкозы и глюкозо-1-фосфата, у микробиоты подвздошной и слепой кишки было сопоставимо.

Процесс обратный гликолизу (путь GLYCOLYSIS-TCA-GLYOX-BYPASS), в микробном сообществе слепых отростков кишечника куропаток также был представлен в 2,5 раза большим количеством генов, ответственных за его реализацию. Стоит отметить, что ферменты данного глюконеогенного пути широко распространены у архей, бактерий, грибов, растений и животных [14, 15, 16].

Другие выраженные отличия наблюдались между функциональным профилем слепой и подвздошной кишки по представленности метаболических путей, связанных с антиоксидантной активностью, метаболизмом витаминов и кофакторов (рис. 4). В частности, в содержимом слепых отростков наблюдалось большее содержание генов, связанных с биосинтезом НАД (никотинамидадениндинуклеотида), который, как и его фосфорилированное производное, никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ), являются двумя наиболее важными коферментами в окислительно-восстановительных реакциях клетки. Как правило, НАД участвует в катаболических реакциях, тогда как НАДФ в анаболических [17, 18]. Активность метаболического пути NAD-BIOSYNTHESIS-II микробиоты слепых отростков превосходило показатель содержимого подвздошной кишки в 122 раза ($p \leq 0{,}005$).

ДНК-последовательности, обеспечивающие метаболические пути, связанные с восстановлением НАД I (PYRIDNUCSAL -PWY) и направленные на синтез НАД из аспартата (PYRIDNUCSYN-PWY) у микробиоты химуса слепых кишок встречались в 2,1 и 1,7 раза чаще, чем в тонкой кишке, соответственно.

В содержимом слепой кишки куропатки наблюдалось большее относительное количество генов, ассоциированных с метаболизмом витаминов. Метаболические пути PYRIDOXSYN-PWY отражающие биосинтез пиридоксаль-5'-фосфата I, являющегося витамером витамина B6 и важным кофактором во всех живых системах, у микробиоты слепых отростков были в 3,9 раз ($p \leq 0{,}05$) более выраженными по сравнению с тонкой кишкой. Стоит

отметить, что пиридоксаль-5'-фосфат I играет важную роль в метаболизме аминокислот и углеводов. При этом указанный метаболический путь характерен только для микроорганизмов и растений. Данное соединение не может быть синтезировано организмом животных, что обуславливает его статус незаменимого нутриента в их рационе [19].

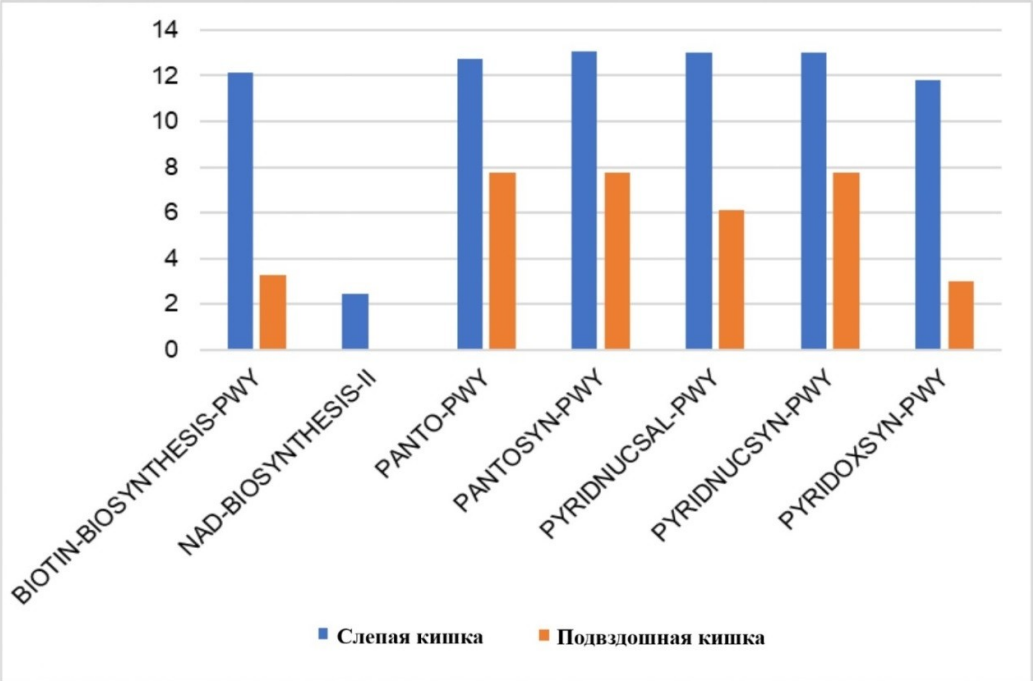


Рисунок 4 – Функциональный состав микробиома ЖКТ белой куропатки. Пути синтеза витаминов и коферментов (по данным NGS-секвенирования ампликонов гена 16S рРНК).

Различия в метаболическом пути BIOTIN-BIOSYNTHESIS-PWY ответственного за биосинтез биотина составили 3,7 раза. Стоит отметить, что биотин является важным кофактором для ферментов переноса карбоксильных групп, таких как ацетил-КоА-карбоксилаза, необходимого для всех форм жизни [20].

Гены, ответственные за синтез фосфопантотената через метаболический путь PANTO-PWY, в микробном сообществе слепой кишки встречались в 1,6 раза чаще. При этом биосинтез фосфопантотената возможен только растениями и микроорганизмами (включая некоторые эукариотические микроорганизмы, такие как *Saccharomyces cerevisiae*). Наиболее распространенной формой солей пантотеновой кислоты (витамина B5) является пантотенат кальция, который представляет собой кальциевую соль витамина B5. Он играет важную роль в обмене веществ, участвует в синтезе кофермента А (КоА), необходимого для многих метаболических процессов, и поддерживает энергетический обмен.

Метаболический путь PANTOSYN-PWY обеспечивает биосинтез кофермента А (КоА) – кофактора, широко распространенного у растений, бактерий и животных. Кофермент А играет ключевую роль в многочисленных ферментативных реакциях, являющихся центральными для промежуточного метаболизма, включая

окисление жирных кислот, углеводов и аминокислот. Кроме того, кофермент А необходим для множества биосинтетических процессов и катаболических путей, в ходе которых формируются ключевые промежуточные продукты в энергетическом обмене [21]. В контексте микробного сообщества толстой кишки активность данного метаболического пути оказалась в 1,7 раза выше по сравнению с представителями тонкой кишки.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В ходе настоящего исследования впервые с применением метода NGS-секвенирования исследован таксономический состав микробиома кишечника белой куропатки и определен его метаболический потенциал. Продемонстрированы уникальные особенности, характерные для тонкого и толстого отдела кишечника указанного вида птиц. В составе микробиома содержимого всех образцов присутствовало 15 бактериальных филумов и суперфилумов, среди которых доминирующими были представители *Firmicutes, Cyanobacteria* и *Bacteroidota*, доля которых существенно различалась в зависимости от отдела кишечника. При этом в слепых отростках белой куропатки доминирующими оказались бактерии с высоким метаболическим потенциалом в отношении питательных веществ корма из филумов *Firmicutes u Bacteroidota*, а в подвздошной кишке преобладающими были представители филума *Cyanobacteria*, особенностью которых является развитие симбиотических отношений с другими микроорганизмами, что способствует формированию более разнообразного микробиома и повышает его функциональные возможности.

Метаболический профиль слепой и подвздошной кишки также имели характерные отличия. Микробиом слепых отростков характеризовался более высоким разнообразием метаболических путей, ассоциированных с энергетическим обменом, антиоксидантными свойствами, биосинтезом витаминов и кофакторов.

STUDY OF THE TAXONOMIC AND FUNCTIONAL PROFILE OF THE WILLOW PARTRIDGE MICROBIOME

Filatov A.V.[1,2] * – Dr. of Veterinary Sciences, Prof., Leading Researcher (ORCID 0000-0003-4557-844X); **Nikolaev S.V.**[1] – Candidate of Veterinary Sciences, Leading Researcher (ORCID 0000-0001-5485-4616); **Laptev G.Yu.**[3,4] – Dr. of Biological Sciences (ORCID 0000-0002-8795-6659); **Ilina L.A.**[3,4] – Dr. of Biological Sciences (0000-0003-2789-4844)

[1] Institute of Agrobiotechnology named after A.V. Zhuravsky Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

[2] Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Vyatka State Agrotechnological University”,

[3] Federal State Educational Institution of Higher Education "Saint Petersburg State Agrarian University" (FSBEI VO SPbSAU)

[4] Limited Liability Company "BIOTROF" (OOO "BIOTROF")

*fav6819@yandex.ru

ABSTRACT

Despite a significant amount of research on the digestive system of birds, grouse, which includes the, remain insufficiently studied in this context. One of the characteristic features of the digestive physiology of partridge (Lagopus lagopus) is the enlarged cecum compared to representatives of other families. The purpose of this study is to analyze the taxonomic and metabolic composition of the intestinal microbiota of the white partridge using modern molecular genetic methods, in particular NGS sequencing. The object of the study was the contents of the ileum and caecal appendages of the intestine of a white partridge, harvested in winter on the territory of the Malozemelskaya tundra of the Nenets Autonomous Okrug. The research results demonstrated a range of differences related to the taxonomic and functional diversity of the microbiota of the small and large intestine of the white partridge. At the same time, a significantly higher number of bacteria with cellulolytic properties

(Clostridia vadinBB60, Oscillospiraceae, and Lachnospiraceae families) was observed in the blind processes of birds. This fact may be of interest in the context of the search for strains of microorganisms for the development of biological products with probiotic and enzymatic properties. Representatives of opportunistic microbiota (Streptococcaceae and Helicobacteraceae families) have also been detected in the intestines of the white partridge, which often causes diseases due to weakened immunity. In the cecum, compared with the ileum, there was a higher number of metabolic pathways associated with energy metabolism (FUC-RHAMCAT-PWY ($p<0.005$), FUCCAT-PWY ($p<0.001$), GLUCUROCAT-PWY ($p<0.005$)), antioxidant activity (NAD-BIOSYNTHESIS-II ($p<0.005$), PYRIDNUCSAL-PWY, PYRIDNUCSYN-PWY, PYRIDOXSYN-PWY ($p<0.05$)), biosynthesis of vitamins and cofactors. The results of the conducted studies indicate a significant metabolic potential of the intestinal microbiome of the white partridge, especially in its blind processes.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Воронин Р.Н. Питание белой куропатки в Большеземельской тундре // Сборник научн.-техн. Информ. ВНИИОЗ. Киров. – 1974. Вып. 44-45. – С. 58-63.
2. Johnsgard, P. Grouses and Quais of North America. – New York, 1973.
3. Исаев А.П. Тетеревиные птицы Якутии: распространение, численность, экология. - Новосибирск: Наука, 2016. – 340 с.
4. Андреев А.В. Адаптация птиц к зимним условиям Субарктики. – М.: Наука, 1980. – 176 с.
5. Лаптев Г.Ю., Новикова Н.И., Йылдырым Е.А., Ильина Л.А. Микробиом сельскохозяйственных животных: связь со здоровьем и продуктивностью – СПб, 2020. – 336 с.
6. Hird, S.M., Sánchez C., Carstens B.C., Brumfield R.T. Comparative Gut Microbiota of 59 Neotropical Bird Species // Front Microbiol. – 2015. – V. – 21(6). – P. 1403. DOI: 10.3389/fmicb.2015.01403.
7. Потапов Р.Л. Отряд курообразные (Galliformes). Семейство тетеревиные (Tetraonidae). – Л.: Наука, 1985. – 638с. – (Фауна СССР; Н.С., № 133; Птицы; Т. Ш; Вып.1; Ч.2).
8. Кочкарев П.В. Роль слепых отростков белой куропатки (lagopus lagopus Montin. 1776) в процессе регулирования микроэлементного состава // Вестник КрасГАУ. – 2014. – №10.
9. Каблучеева Т.И. Роль слепых кишок в переваривании клетчатки корма// Тр. КубГАУ. – Краснодар, 2000. – Вып. № 379(407). – С. 100-104.
10. Кузьмина М.А. Тетеревиные и фазановые СССР. – Алма-Ата: Наука, 1977.
11. Moss R., Parkinson J.A. The digestion of heather (Calluna vulgaris) by Red Grouse (Langorus lagopus scoticus). – Brit. J. Nutr., 1972, vol. 27, p. 285-298.
12. Pulliainen E., Paloheimo L., Syrjala L., Digestibility of blueberry stems (Vaccinium myrtillus) and cowberries (Vaccinium vitis-iddaea) in the Willow Grouse (Langorus lagopus). – Ann. Acad. Sci. Fenn. Ser, A. Biol., 1968, vol. 126, p. 4-15.
13. Андреев А.В. Об энергетическом балансе и особенностях пищеварения некоторых тетеревиных птиц в зимний период. – Биол. Проб. Севера, 1973, вып. 2. – С. 146-155.
14. Hu, S., Png, E., Gowans, M. et al. Ectopic gut colonization: a metagenomic study of the oral and gut microbiome in Crohn's disease. Gut Pathog 13, 13 (2021). https://doi.org/10.1186/s13099-021-00409-5
15. Cherbuy, C., Vaugelade P, Labarthe S, Honvo-Houeto E, Darcy-Vrillon B, Watford M, Duée PH. The Contribution of Intestinal Gluconeogenesis to Glucose Homeostasis Is Low in 2-Day-Old Pigs // J. Nutr. – 2017. – V.147(3). –P. 361-366. DOI: 10.3945/jn.116.242131.
16. Sheng, S., Chen J., Zhang Y., Qin Q., Li W., Yan S., Wang Y., Li T., Gao X., Tang L, Li A, Ding S. Structural and Functional Alterations of Gut Microbiota in Males with Hyperuricemia and High Levels of Liver Enzymes // Front. Med. (Lausanne). – 2021. – V.19. P. 8:779994. DOI: 10.3389/fmed.2021.779994.
17. Houtkooper, R.H., Cantó C., Wanders

R.J., Auwerx J. The secret life of NAD+: an old metabolite controlling new metabolic signaling pathways // Endocr. Rev. 2010 – V.2. – P.194-223. DOI: 10.1210/er.2009-0026.
18. Croft T., Venkatakrishnan P., Lin S.J. NAD+ Metabolism and Regulation: Lessons from Yeast. Biomolecules. 2020. – V. 10(2). – P. 330. DOI: 10.3390/biom10020330
19. Manzoor A, Amir S, Gul F, Sidique MA, Kayani MUR, Zaidi SSA, Javed S, Abbas Shah ST, Nasir A. Characterization of the Gastrointestinal and Reproductive Tract Microbiota in Fertile and Infertile Pakistani Couples // Biology (Basel). 2021. – V.11 (1). – P. 40. DOI: 10.3390/biology11010040.
20. Peng, Y.C., Xu J.X., You X.M., Huang Y.Y., Ma L., Li L.Q., Qi L.N. Specific gut microbiome signature predicts hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma patients with microvascular invasion // Ann. Med. – 2023. –V. 55(2). P. 2283160. DOI: 10.1080/07853890.2023.2283160
21. Oretomiloye, F, Adewole D. Exploring the modulatory effects of brown seaweed meal and extracts on intestinal microbiota and morphology of broiler chickens challenged with heat stress // Poult Sci – 2024. – V. 103(4). – P. 103562. DOI: 10.1016/ j.psj.2024.103562.

REFERENCES

1. Voronin, R. N. (1974). Pitanie beloy kuropatki v Bol'shezemel'skoy tundre [Nutrition of the willow ptarmigan in the Bol'shezemel'skaya tundra]. Sbornik nauchno-tekhnicheskoy informatsii VNIIOZ, (44-45), 58–63.
2. Johnsgard, P. A. (1973). Grouse and Quails of North America. University of Nebraska Press.
3. Isaev, A. P. (2016). Teterevinye ptitsy Yakutii: rasprostranenie, chislennost', ekologiya [Grouse birds of Yakutia: distribution, abundance, ecology]. Nauka.
4. Andreev, A. V. (1980). Adaptatsiya ptits k zimnim usloviyam Subarktiki [Adaptation of birds to winter conditions of the Subarctic]. Nauka.
5. Laptev, G. Yu., Novikova, N. I., Yıldırım, E. A., & Ilyina, L. A. (2020). Mikrobiom sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh: svyaz so zdorov'em i produktivnost'yu [Microbiome of farm animals: connection with health and productivity]. (In Russian).
6. Hird, S. M., Sánchez, C., Carstens, B. C., & Brumfield, R. T. (2015). Comparative Gut Microbiota of 59 Neotropical Bird Species. Frontiers in Microbiology, *6*, 1403. https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01403.
7. Potapov, R. L. (1985). Otryad kuroobraznye (Galliformes). Semeystvo teterevinye (Tetraonidae) [Order Galliformes. Family Tetraonidae]. In Fauna SSSR. Ptitsy (Vol. 1, Pt. 2). Nauka. (In Russian).
8. Kochkarev, P. V. (2014). Rol' slepykh otrostkov beloy kuropatki (Lagopus lagopus Montin. 1776) v protsesse regulirovaniya mikroelementnogo sostava [The role of the cecal appendages of the willow ptarmigan in regulating the microelement composition]. Vestnik KrasGAU, (10).
9. Kablucheeva, T. I. (2000). Rol slepykh kishek v perevarivanii kletchatki korma [The role of ceca in the digestion of feed fiber]. Trudy Kubanskogo Gosudarstvennogo Agrarnogo Universiteta, *379*(407), 100–104.
10. Kuz'mina, M. A. (1977). Teterevinye i fazanovye SSSR [Grouse and pheasants of the USSR]. Nauka.
11. Moss, R., & Parkinson, J. A. (1972). The digestion of heather (Calluna vulgaris) by Red Grouse (Lagopus lagopus scoticus). British Journal of Nutrition, *27*(2), 285–298. https://doi.org/10.1079/BJN19720087.
12. Pulliainen, E., Paloheimo, L., & Syrjäla, L. (1968). Digestibility of blueberry stems (Vaccinium myrtillus) and cowberries (Vaccinium vitis-idaea) in the Willow Grouse (Lagopus lagopus). Annales Academiae Scientiarum Fennicae. Series A. IV. Biologica, (126), 1–4.
13. Andreev, A. V. (1973). Ob energeticheskom balanse i osobennostyakh pishchevareniya nekotorykh teterevinykh ptits v zimniy period [On the energy balance and digestion features of some grouse birds in winter]. Biologicheskie Problemy Severa, (2), 146–155.
14. Hu, S., Png, E., Gowans, M., et al.

(2021). Ectopic gut colonization: a metagenomic study of the oral and gut microbiome in Crohn's disease. Gut Pathogens, *13*, 13. https://doi.org/10.1186/s13099-021-00409-5.

15.Cherbuy, C., Vaugelade, P., Labarthe, S., Honvo-Houeto, E., Darcy-Vrillon, B., Watford, M., & Duée, P. H. (2017). The Contribution of Intestinal Gluconeogenesis to Glucose Homeostasis Is Low in 2-Day-Old Pigs. The Journal of Nutrition, *147*(3), 361–366. https://doi.org/10.3945/jn.116.242131.

16.Sheng, S., Chen, J., Zhang, Y., Qin, Q., Li, W., Yan, S., Wang, Y., Li, T., Gao, X., Tang, L., Li, A., & Ding, S. (2021). Structural and Functional Alterations of Gut Microbiota in Males with Hyperuricemia and High Levels of Liver Enzymes. Frontiers in Medicine, *8*, 779994. https://doi.org/10.3389/fmed.2021.779994.

17.Houtkooper, R. H., Cantó, C., Wanders, R. J., & Auwerx, J. (2010). The secret life of NAD+: an old metabolite controlling new metabolic signaling pathways. Endocrine Reviews, *31*(2), 194–223. https://doi.org/10.1210/er.2009-0026.

18.Croft, T., Venkatakrishnan, P., & Lin, S. J. (2020). NAD+ Metabolism and Regulation: Lessons from Yeast. Biomolecules, *10*(2), 330. https://doi.org/10.3390/biom10020330.

19.Manzoor, A., Amir, S., Gul, F., Sidique, M. A., Kayani, M. U. R., Zaidi, S. S. A., Javed, S., Abbas Shah, S. T., & Nasir, A. (2021). Characterization of the Gastrointestinal and Reproductive Tract Microbiota in Fertile and Infertile Pakistani Couples. Biology, *11*(1), 40. biology11010040.

20.Peng, Y. C., Xu, J. X., You, X. M., Huang, Y. Y., Ma, L., Li, L. Q., & Qi, L. N. (2023). Specific gut microbiome signature predicts hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma patients with microvascular invasion. Annals of Medicine, *55*(2), 2283160. https://doi.org/10.1080/07853890.2023.2283160.

21.Oretomiloye, F., & Adewole, D. (2024). Exploring the modulatory effects of brown seaweed meal and extracts on intestinal microbiota and morphology of broiler chickens challenged with heat stress. Poultry Science, *103*(4), 103562. https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.103562.

УДК: 611.146:599.742.41
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.310

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ХОДА И ВЕТВЛЕНИЯ ВЕНЫ САФЕНА У СОБОЛЕЙ В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ

Яволовская Я.О.* – канд. ветеринар. наук, асс. каф. патологической анатомии и судебной ветеринарной медицины (ORCID 0000-0000-0002-2533-8708); **Щипакин М.В.** – д-р ветеринар. наук, проф., зав. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0002-2960-3222)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* yavolovskaya94@bk.ru

Ключевые слова: *вена сафена, анализ, ход и ветвление, соболь, ветвь, диаметр, возрастная группа.*

Key words: *safena vein, analysis, course and branching, sable, branch, diameter, age group.*

Поступила: 20.10.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Особую значимость приобретают вопросы динамики линейного роста и развития структур опорно-двигательного аппарата в процессе локомоции. Одним из ключевых выводов этих работ стало установление закономерности постнатального онтогенеза, согласно которой кости и мышцы демонстрируют более интенсивный рост и развитие в проксимальных отделах конечностей (например, в области стилоподия) по сравнению с дистальными (автоподием). Эта особенность напрямую связана с биомеханикой: именно проксимальные сегменты несут наибольшую нагрузку, генерируя основную движущую силу. Сосудистая система является интегральным и адаптивным компонентом всей двигательной системы. С клинической точки зрения, доскональное знание топографии скелета, мышц и, что особенно важно, сосудисто-нервных пучков тазовой конечности переводится из теоретической плоскости в сугубо практическую. Это знание абсолютно необходимо при планировании и проведении хирургических вмешательств – от остеосинтеза при переломах и артропластики до сосудистого шва и ампутаций, где ошибка в идентификации структуры может привести к тяжелым осложнениям, таким как кровотечение, ишемия или нарушение иннервации. Цель исследования – установить ход и ветвление вены сафена у соболей черной пушкинской породы в возрастном аспекте, провести сравнительный анализ топографических и морфометрических особенностей у данного сосуда. Объектами для проведения данного исследования послужили трупы соболя черной пушкинской породы двух возрастных групп. В результате исследования, установлено, что малая вена сафена является основным коллектором венозной крови с дистальных отделов тазовой конечности, формируя разветвленную сеть с анастомозами на дорсальной и плантарной поверхностях стопы. Морфомет-

рические данные демонстрируют четкую положительную возрастную динамику диаметра обеих вен. За период от 15-20 до 36-40 месяцев диаметр латеральной вены сафена увеличивается в 1,67 раза, а медиальной – в 1,73 раза, что свидетельствует о продолжающемся развитии и адаптации сердечно-сосудистой системы к повышающимся функциональным нагрузкам у взрослых животных.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Детальное изучение анатомии домашних животных, является основополагающим фактором клинического мышления ветеринарного врача. Особую значимость приобретают вопросы динамики линейного роста и развития структур опорно-двигательного аппарата в процессе локомоции. Многочисленные исследования, как отечественных, так и зарубежных ученых, были сфокусированы на изучении структурных компонентов костной, мышечной и сосудистой систем, а также на выявлении анатомических особенностей, детерминированных средой обитания и спецификой передвижения разных видов животных. Одним из ключевых выводов этих работ стало установление закономерности постнатального онтогенеза, согласно которой кости и мышцы демонстрируют более интенсивный рост и развитие в проксимальных отделах конечностей (например, в области стилоподия) по сравнению с дистальными (автоподием). Эта особенность напрямую связана с биомеханикой: именно проксимальные сегменты несут наибольшую нагрузку, генерируя основную движущую силу. Функциональная роль тазовых конечностей, заключается не только в обеспечении опоры, но и в придании телу относительной пружинистости, что критически важно для быстроты движений при беге, совершении прыжков и реализации сложных поведенческих реакций на изменения окружающей среды. Эффективность работы мышечного аппарата напрямую зависит от его кровоснабжения, что находит свое отражение в анатомии: чем активнее и функционально значимее мышца, тем более развитая и обильная сеть кровеносных сосудов ее питает. Таким образом, сосудистая система является интегральным и адаптивным компонентом всей двигательной системы. С клинической точки зрения, доскональное знание топографии скелета, мышц и, что особенно важно, сосудисто-нервных пучков тазовой конечности переводится из теоретической плоскости в сугубо практическую. Это знание абсолютно необходимо при планировании и проведении хирургических вмешательств – от остеосинтеза при переломах и артропластики до сосудистого шва и ампутаций, где ошибка в идентификации структуры может привести к тяжелым осложнениям, таким как кровотечение, ишемия или нарушение иннервации. Кроме того, эти знания незаменимы при проведении ветеринарно-санитарной экспертизы туш, где точное определение анатомических ориентиров позволяет ветсанэксперту выявлять случаи фальсификации продукции. Учитывая комплексную востребованность этих знаний, от фундаментальной хирургии до прикладной пищевой безопасности – актуальность и практическая значимость их углубленного изучения не вызывают ни малейших сомнений [1-5].

Цель исследования – установить ход и ветвление вены сафена у соболей черной пушкинской породы в возрастном аспекте, провести сравнительный анализ топографических и морфометрических особенностей у данного сосуда.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводили на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Трупный материал для исследования был доставлен на кафедру анатомии животных ФГБОУ ВО «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 (половая зрелость) и

36-40 месяцев от рождения (хозяйственная зрелость) в количестве 10 штук в каждой группе. Для достижения поставленной задачи использовали комплекс традиционных анатомических методов исследования: тонкое анатомическое препарирование, мацерация, вазорентгенография, фотографирование и морфометрия [6-11].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Проведенное исследование венозной системы тазовой конечности у соболей черной пушкинской породы выявило ряд специфических анатомо-морфологических особенностей, которые существенно отличаются от ангиоархитектоники у домашних плотоядных, демонстрирующую четкую возрастную динамику. В качестве объекта для анализа были выделены следующие сосуды: латеральная (малая) и медиальная (большая) вены сафена, их топография, характер ветвления и количественные изменения в возрасте от 15-20 до 36-40 месяцев.

В результате исследования было установлено, что латеральная вена сафена (v. saphena lateralis s. v. saphena parva) является основным сосудом поверхностной венозной магистрали, превалируя по своему значению по диаметру над медиальной веной сафена (v. saphena medialis s. v. saphena magna).

Локализация малой вены сафена стандартна – она проходит по латеральной поверхности голени в области икроножной мышцы. Однако ее дистальное ветвление имеет характерные особенности. Непосредственно перед выходом на стопу сосуд делится на две основные магистрали: краниальную и каудальную ветви. Краниальная ветвь, направляясь на дорсальную поверхность стопы, формирует крупный анастомоз с краниальной ветвью большой вены сафена. Этот анастомоз служит ключевым связующим звеном между двумя поверхностными венозными системами, обеспечивая коллатеральный кровоток. Далее данная ветвь принимает в себя кровь от второй, третьей и четвертой общих дорсальных пальцевых вен, выступая, таким образом, основным коллектором венозной крови от пальцев на дорсальной стороне. Каудальная ветвь малой вены сафена берет начало на плантарной поверхности, где в области заплюсны впадает в более глубоко расположенную латеральную плантарную вену, обеспечивая связь поверхностного и глубокого венозных русел. На уровне плюсны эта ветвь посредством крупного анастомоза соединяется со второй дорсальной плюсневой веной, формируя плантарную дугу. В эту дугу, в свою очередь, впадают общие осевые плантарные пальцевые вены (II, III, IV), что делает каудальную ветвь главным коллектором венозной крови с плантарной поверхности стопы. Таким образом, малая вена сафена у соболей выполняет комплексную дренажную функцию, собирая кровь как с дорсальной, так и с плантарной поверхностей дистального отдела тазовой конечности, что и объясняет ее доминирующее положение.

Медиальная вена сафена (большая вена сафена) у исследуемых соболей, вопреки своему названию, имеет меньший калибр. Она расположена на голени, где в своей проксимальной трети также делится на краниальную и каудальную ветви. Краниальная ветвь большой вены сафена в области заплюсны анастомозирует с одноименной ветвью малой вены сафена, после чего отдает дорсальные плюсневые вены. Каудальная ветвь напрямую впадает в дорсальные плюсневые вены. Функционально большая вена сафена у соболей выглядит как сосуд, дополняющий и резервирующий систему малой вены, участвуя в дренаже дорсальной поверхности через систему анастомозов, но в значительно меньшей степени берет на себя нагрузку по оттоку от пальцев.

Наиболее ярко возрастные различия проявляются при анализе морфометрических данных (Табл. 1). Диаметр латеральной вены сафена у молодых особей в возрасте 15-20 месяцев составляет в среднем 1,05±0,10 мм. К возрасту 36-40 месяцев этот показатель достоверно увеличивается, достигая в среднем 1,75±0,15 мм. Проведенный расчет показывает, что увели-

чение диаметра составляет 1,67 раза. Эта динамика является статистически значимой и отражает общие закономерности роста и формирования организма. Увеличение диаметра сосуда можно связать с несколькими факторами. Во-первых, с общим ростом мышечной массы тела и тазовых конечностей в целом, что требует повышенного объема венозного оттока. Во-вторых, с увеличением функциональной нагрузки на конечности у взрослых, половозрелых животных, ведущих активный образ жизни. В-третьих, с естественными процессами развития и укрепления сосудистой стенки.

Таблица 1 – Морфометрические данные вены сафена на тазовой конечности соболя черной пушкинской породы в возрастном аспекте

Название артерии	Единицы измерения	Соболя 15-20 месяцев от рождения	Соболя 36-40 месяцев от рождения
Латеральная вена сафена (малая вена сафена)	мм	1,05±0,10	1,75±0,15*
Медиальная вена сафена (большая вена сафена)	мм	0,75±0,08	1,30±0,13*

* P<0,05 уровень достоверности при сравнении с соболями 15-20 месяцев от рождения.

Аналогичная, и даже несколько более выраженная, возрастная динамика наблюдается у медиальной вены сафена. У молодых соболей ее диаметр равен 0,75±0,08 мм, тогда как у взрослых особей он достигает 1,30±0,13 мм. Коэффициент увеличения здесь составляет 1,73 раза. Несмотря на то, что абсолютные значения диаметра медиальной вены остаются меньшими по сравнению с латеральной в обеих возрастных группах, темпы ее относительного роста несколько выше. Это может указывать на то, что по мере взросления и увеличения общей нагрузки на организм венозная система стремится к более сбалансированному распределению крови, и роль большой вены сафена, хотя и остающейся второстепенной, несколько возрастает.

Сравнивая абсолютные показатели, можно констатировать, что в возрасте 15-20 месяцев диаметр малой вены сафена превышает диаметр большой вены сафена в 1,40 раза (1,05 мм против 0,75 мм). К 36 -40 месяцам это соотношение сохраняется на том же уровне – в 1,35 раза (1,75 мм против 1,30 мм). Это подтверждает стабильность установленной анатомической особенности – превалирующей латеральной вены сафена над медиальной на протяжении всего изученного периода постнатального развития.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведенный сравнительный анализ позволяет сделать следующие заключения. Во-первых, у соболей черной пушкинской породы выявлена уникальная анатомическая особенность, заключающаяся в превалирующей роли латеральной вены сафена (малой подкожной вены) над медиальной (большой подкожной веной) как по ходу и ветвлению сосуда, так и по объему выполняемой дренажной функции. Малая вена сафена является основным коллектором венозной крови с дистальных отделов тазовой конечности, формируя разветвленную сеть с анастомозами на дорсальной и плантарной поверхностях стопы. Во-вторых, морфометрические данные демонстрируют четкую положительную возрастную динамику диаметра обеих вен. За период от 15-20 до 36-40 месяцев диаметр латеральной вены сафена увеличивается в 1,67 раза, а медиальной – в 1,73 раза, что свидетельствует о продолжающемся развитии и адаптации сердечно-сосудистой системы к повышающимся функциональным нагрузкам у

взрослых животных. В-третьих, установленное соотношение диаметров между двумя магистральными венами (превалирование малой над большой) является стабильным и сохраняется в обеих исследованных возрастных группах, что подтверждает его как видовой или породной морфологический признак, а не как возрастную особенность. Полученные данные имеют важное значение для сравнительной анатомии, а также могут быть учтены в ветеринарной практике при проведении хирургических вмешательств или внутривенных инъекций у данного вида животных.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE COURSE AND BRANCHING OF THE SAFIN VEIN IN SABLES IN THE AGE ASPECT

Yavolovskaya Ya.O. * – Candidate of Veterinary Sciences, ass. department of Pathological Anatomy and Forensic Veterinary Medicine (ORCID 0000-0000-0002-2533-8708); **Shchipakin M.V.** – Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0000 -0002-2960-3222)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* yavolovskaya94@bk.ru

ABSTRACT

Of particular importance are the issues of the dynamics of linear growth and the development of structures of the musculoskeletal system in the process of locomotion. One of the key conclusions of these studies was the establishment of a pattern of postnatal ontogenesis, according to which bones and muscles demonstrate more intensive growth and development in the proximal parts of the limbs (for example, in the area of the stylopodium) compared with the distal (autopodium). This feature is directly related to biomechanics: it is the proximal segments that carry the greatest load, generating the main driving force. The vascular system is an integral and adaptive component of the entire motor system. From a clinical point of view, a thorough knowledge of the topography of the skeleton, muscles and, most importantly, neurovascular bundles of the pelvic limb are translated from the theoretical plane into a purely practical one. This knowledge is absolutely necessary when planning and conducting surgical interventions, from osteosynthesis for fractures and arthroplasty to vascular suture and amputations, where an error in identifying the structure can lead to severe complications such as bleeding, ischemia or impaired innervation. The aim of the study was to establish the course and branching of the safena vein in Black Pushkin sables in the age aspect, and to conduct a comparative analysis of the topographic and morphometric features of this vessel. The objects for this study were the corpses of a black Pushkin sable of two age groups. As a result of the study, it was found that the small vein of safena is the main collector of venous blood from the distal parts of the pelvic limb, forming an extensive network with anastomoses on the dorsal and plantar surfaces of the foot. Morphometric data demonstrate a clear positive age dynamics of the diameter of both veins. Over the period from 15-20 to 36-40 months, the diameter of the lateral vein of safena increases by 1.67 times, and the medial vein by 1.73 times, which indicates the continued development and adaptation of the cardiovascular system to increasing functional loads in adult animals.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Васильев, Д. В. Архитектоника вен кисти на пальмарной поверхности у быка домашнего / Д. В. Васильев // Вызовы и инновационные решения в аграрной науке: Материалы XXVIII Международной научно-производственной конференции, Майский, 10–11 июня 2024 года. – Майский: ФГБОУ ВО Белгородский ГАУ, 2024. – С. 9-10. – EDN VUYLYY.

2. Былинская Д.С. Архитектоника венозной системы тазовой конечности рыси евразийской // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2014. – № 4. – С. 148-150.

3. Былинская Д.С. Венозное русло тазовой конечности рыси евразийской // Ип-

пология и ветеринария. – 2015. – № 2(16). – С. 104-107.
4. 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. – EDN BPAHTR.
5. Васильев, Д. В. Архитектоника вен кисти быка домашнего / Д. В. Васильев // Молодые ученые - науке и практике АПК: Материалы научно-практической конференции аспирантов и молодых ученых, Витебск, 27–28 апреля 2023 года / Редколлегия: Н.И. Гавриченко (гл. ред.) [и др.]. – Витебск: Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины ", 2023. – С. 382-385. – EDN RWNVXC.
6. 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.
7. Стратонов, А. С. Васкуляризация области голени и стопы у кошки домашней / А. С. Стратонов // Материалы 65-й юбилейной научной конференции молодых ученых и студентов СПбГАВМ, Санкт-Петербург, 24–25 марта 2011 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2011. – С. 81-82.
8. Кичеева, Т. Г. Мышцы тазобедренного сустава и топографически ассоциированные с ними вены у свиней породы йоркшир / Т. Г. Кичеева, С. И. Мельников // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2025. – № 2. – С. 125-129. – DOI 10.52419/issn2782-6252.2025.2.125. – EDN KPGGFL.
9. Щипакин М.В. Анатомо-топографические особенности оттока хода и ветвления вен от ягодичных мышц свиней породы йоркшир // Современные проблемы аграрной науки и пути их решения: Материалы Всероссийской научно-практической конференции имени Заслуженного деятеля науки КБР, почетного работника виноградарской и винодельческой отраслей Ставропольского края, академика МАНЭБ, д. с-х. н., профессора М.Н. Фисуна, Нальчик, 09 ноября 2023 года. Нальчик: Кабардино-Балкарский государственный аграрный университет им. В.М. Кокова. 2023. – С. 387-389.
10. Яволовская Я.О. Возрастная скелетотопия глубокой магистрали венозного русла тазовой конечности соболя чёрной пушкинской породы / Я.О. Яволовская, М.В. Щипакин, А.К. Мамедкулиев // Ипология и ветеринария. – 2024. – № 3(53). – С. 92-98. DOI: 10.52419/2225-1537/2024.3.92-98. EDN: UVAWQE.
11. Стратонов, А. С. Рентгеноанатомия вен скакательного сустава овец романовской породы / А. С. Стратонов // Материалы 68-й международной научной конференции молодых ученых и студентов СПбГАВМ, Санкт-Петербург, 23–24 апреля 2014 года /. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2014. – С. 115-116. – EDN ULQLSQ.

REFERENCES

1. Vasiliev, D. V. Architectonics of hand veins on the palm surface of a domestic bull / D. V. Vasiliev // Challenges and innovative solutions in agricultural science: Proceedings of the XXVIII International Scientific and Industrial Conference, Maysky, June 10-11, 2024. – Maisky: Belgorod State Agrarian University, 2024. – pp. 9-10. – EDN VUYLYY.
2. Bylinskaya D.S. Architectonics of the venous system of the pelvic limb of the Eurasian lynx // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. - 2014. – No. 4. – pp. 148-150.
3. Bylinskaya D.S. Venous bed of the pelvic

limb of the Eurasian lynx // Hippology and veterinary medicine. – 2015. – № 2(16). – Pp. 104-107.
4. Stratonov, A. S. Age-related 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 Agricultural Science", Tyumen, October 12, 2021. Tyumen: State Agrarian University of the Northern Urals, 2021. pp. 401-405. EDN BPAHTR.
5. Vasiliev, D. V. Architectonics of veins by a bull at home / D. V. Vasiliev // Young scientists in science and practice of agriculture: Proceedings of the scientific and practical conference of graduate students and young scientists, Vitebsk, April 27-28, 2023 / Editorial Board: N.I. Gavrichenko (chief editor) [et al.]. – Vitebsk: Educational Institution "Vitebsk Order of the Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine, 2023. – pp. 382-385. – EDN RWNVXC.
6. Stratonov, A. S. Vascularization of the shin and foot area in pigs of the Landrace and Yorkshire breeds in a comparative aspect / A. S. Stratonov, M. V. Shchipakin // International Bulletin of Veterinary Medicine. 2019. No. 2. pp. 111-115.
7. Stratonov, A. S. Vascularization of the shin and foot area in domestic cats / A. S. Stratonov // Proceedings of the 65th anniversary Scientific Conference of Young Scientists and Students of St. Petersburg State University of Economics, St. Petersburg, March 24-25, 2011. Saint Petersburg: Saint Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2011, pp. 81-82.
8. Kicheeva, T. G. Hip joint muscles and topographically associated veins in Yorkshire pigs / T. G. Kicheeva, S. I. Melnikov // Regulatory and legal regulation in veterinary medicine. – 2025. – No. 2. – pp. 125-129. – DOI 10.52419/issn2782-6252.2025.2.125. – EDN KPGGFL.
9. Shchipakin M.V. Anatomical and topographic features of the outflow of veins and branching from the gluteal muscles of Yorkshire pigs // Modern problems of agrarian science and ways to solve them: Materials of the All-Russian Scientific and Practical Conference named after the Honored Scientist of the KBR, honorary worker of the viticultural and wine-making industries of the Stavropol Territory, Academician of the MANEB, Doctor of Agricultural Sciences., Professor M.N. Fisun, Nalchik, November 09, 2023. Nalchik: V.M. Kokov Kabardino-Balkarian State Agrarian University. 2023. – pp. 387-389.
10. Yavolovskaya Ya.O. Age-related skeletotopy of the deep trunk of the venous bed of the pelvic limb of the sable of the black Pushkin breed / Ya.O. Yavolovskaya, M.V. Shchipakin, A.K. Mammadkuliyev // Hippology and veterinary medicine. – 2024. – № 3(53). – Pp. 92-98. DOI: 10.52419/2225-1537/2024.3.92-98. EDN: UVAWQE.
11. Stratonov, A. S. X-ray anatomy of the veins of the hock joint of Romanov sheep / A. S. Stratonov // Proceedings of the 68th International Scientific Conference of young scientists and students of St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, St. Petersburg, April 23-24, 2014 /. - St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2014. – pp. 115-116. – EDN ULQLSQ.

УДК: 619:612.7:620.3
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.317

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ УСИЛЕНИЯ ОСТЕОГЕНЕЗА У УТОК ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ НАНОЧАСТИЦ БЕНТОНИТА В ПЕРИОД ЭМБРИОГЕНЕЗА

Тодороски К.[1] – канд. биол. наук, доц. департамента физической культуры, спорта и медиакоммуникаций (ORCID 0000-0003-4908-4316); **Ежкова А.М.**[2] – д-р биол. наук, проф., зав. каф. физиологии и патологической физиологии (ORCID 0000-0002-5526-2214); **Ежков В.О.**[2] – д-р ветеринар. наук, проф. каф. физиологии и патологической физиологии (ORCID 0000-0001-6476-6054)

[1] Московский городской педагогический университет
[2] Казанский государственный аграрный университет

*kiriltodoroski96@gmail.com

***Ключевые слова**:* бентонит, наночастицы, минеральная плотность костной ткани, утки, эмбриогенез, рентгенография.
***Key words:** bentonite, nanoparticles, bone mineral density, ducks, embryogenesis, radiography*

Поступила: 24.08.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

В работе исследовано влияние наносуспензии модифицированного бентонита Тарн-Варского месторождения (Республика Татарстан) на минеральную плотность костной ткани уток при обработке инкубационных яиц в период эмбриогенеза. Эксперимент проведён на 60 инкубационных яйцах пекинской породы, равномерно распределённых на контрольную и опытную группы; обработку 20% наносуспензией бентонита выполняли на 7-й и 13-й сутки инкубации, что соответствует критическим стадиям закладки и минерализации костной ткани [1]. После вылупления в каждой группе сформировали по 20 утят, для рентгенологического анализа в возрасте 3–6 недель отбирали по 5 особей из каждой группы. Рентгенограммы выполняли в вентродорсальной проекции с последующим цифровым анализом яркости в 256 градациях серого и статистической обработкой данных (t-критерий Стьюдента, $p<0,05$). Результаты показывают статистически значимое повышение минеральной плотности костной ткани у утят опытной группы во всех изученных анатомических зонах: тела шейного позвонка, диафизов и эпифизов плечевой, локтевой и бедренной костей. Наиболее выраженный эффект отмечен в дистальном эпифизе бедренной кости (увеличение до ~13–28% в разные возрастные интервалы, $p<0,01$) и в средней части диафиза бедра. Положительная динамика сохранялась на протяжении всего наблюдаемого периода (3–6 недель), что свидетельствует о длительном остеотропном действии нанобентонита. Полученные данные подтверждают высокую биодоступность и потенциал наноформ бентонита для стимуляции остеогенеза и повышения прочности скелета у водоплавающей птицы. Метод обработки инкубационных яиц наносуспензией

бентонита можно рассматривать как перспективный подход для профилактики костных патологий и для дальнейших прикладных исследований в ветеринарной практике.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Полноценное развитие костной ткани у сельскохозяйственной птицы имеет ключевое значение для обеспечения их продуктивности, двигательной активности и профилактики остеопатий [2]. Минеральная плотность костной ткани (МПКТ) тесно связана с механической прочностью скелета, особенно в условиях интенсивного выращивания уток. Традиционные методы обогащения рационов кальцием не всегда обеспечивают высокую биодоступность элементов на критических стадиях развития, особенно в эмбриогенезе [3]. Современные подходы используют наноматериалы для трансскорлупной доставки биоэлементов [4]. Бентонит (природная алюмосиликатная глина) обладает выраженной ионообменной способностью и содержит кремний, кальций, железо и другие жизненно важные микроэлементы, необходимые для остеогенеза [5]. Однако влияние наноформ бентонита на минеральную плотность костей у сельскохозяйственной птицы в эмбриональный период изучено недостаточно [6]. Минеральная плотность костной ткани (МПКТ) тесно связана с механической прочностью скелета, особенно в условиях интенсивного выращивания уток [2]. Традиционные методы обогащения рационов кальцием не всегда обеспечивают высокую биодоступность элементов на критических стадиях развития [3]. Современные подходы используют наноматериалы для трансскорлупной доставки биоэлементов [4].

В связи с чем, целю исследований стало изучение влияния обработки инкубируемых яиц наночастицами бентонита in ovo на минеральную плотность костной ткани уток в постнатальном онтогенезе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

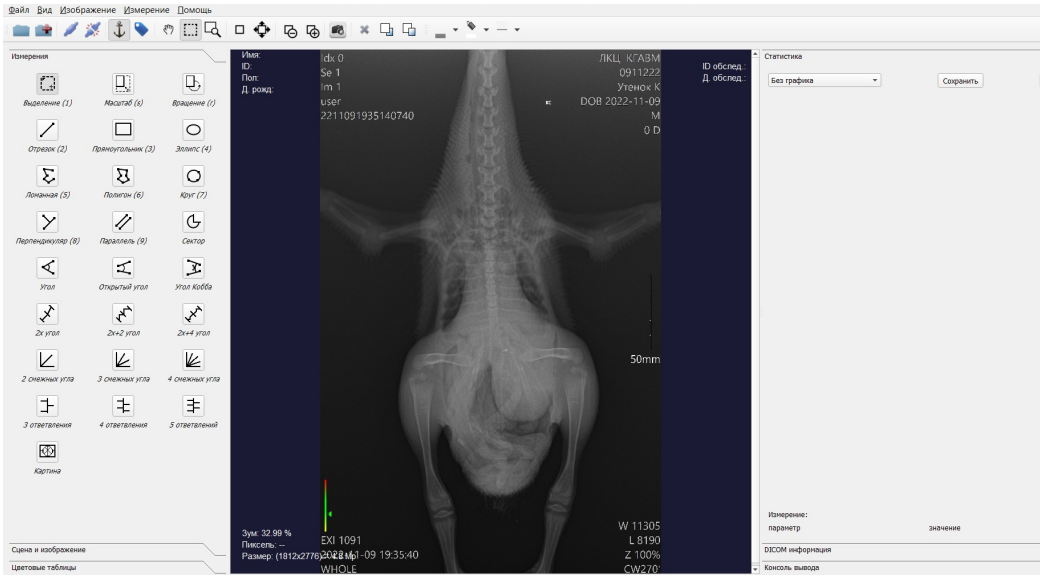
Исследование проведено на базе лабораторий института «Казанская академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Казанский государственный аграрный университет. В качестве объекта исследования использовали 60 инкубационных яиц уток пекинской породы, разделенных на контрольную (n=30) и опытную (n=30) группы.

Для инкубации применяли автоматический бытовой инкубатор «Матрица ВЕГАС» д10 (Россия), предварительно обработанный дезинфицирующим средством. Перед закладкой яйца подвергли овоскопии с использованием настольного овоскопа «ОН-10» (Россия), в результате чего были отбракованы экземпляры с поврежденной скорлупой, неоплодотворенные и некондиционные.

Наносуспензию бентонита Тарн-Варского месторождения Республики Татарстан (размер частиц 50-100 нм) изготавливали методом ультразвуковой обработки в аппарате УЗВ 28/200 МПК РЭЛТЭК (Россия) при частоте 18,5 кГц (±10%), мощности 80 Вт и длительности воздействия 20 минут. Концентрация готовой суспензии составила 20% в деионизированной воде. Аттестацию полученного наноструктурного бентонита проводили на сканируюзем зондовом микроскопе MultiMode V фирмы Veecoи (США) [7]. Обработку яиц опытной группы суспензией нанобентонита проводили пульверизатором на 7 и 13 сутки инкубации, контрольную группу обрабатывали деионизированной водой в аналогичные сроки. Режим инкубации соответствовал принятым стандартам: температура 38,0-37,5°С, влажность 60-90%, с автоматическим поворотом яиц и ежедневным увлажнением в поздние стадии. После вылупления утят были сформированы две группы: опытная и контрольная, по 20 особей в каждой. Для рентгенологического исследования из каждой группы было отобрано по 5 утят. В возрасте уток 3, 4, 5 и 6 недель провели рентгенологические исследования костной ткани с использованием аппарата Dongmun DIG-360 (Корея) и плоскопанельного детектора Rayence 1717 SGC. Съемку выполняли в вентродор-

сальной проекции с параметрами: экспозиция 4 мАс, напряжение 52 кВ. Полученные рентгенограммы анализировали в программе Hi-Scene (Климов и др., 2014), измеряя яркость в 256 градациях серого (рис.1) [8].

Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 12.0 с применением t-критерия Стьюдента; различия считали значимыми при $p<0,05$. Все этапы работы выполнены в соответствии с этическим кодексом по проведению медико-биологических исследований с использованием животных.



РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Проведенные рентгенологические исследования уток в возрасте трех недель позволили получить следующие результаты (табл. 1).

На 3 неделе постэмбрионального развития в опытной группе, получавшей обработку яиц наносуспензией бентонита, наблюдали статистически значимое увеличение минеральной плотности костной ткани во всех исследуемых областях по сравнению с контрольными аналогами. Наиболее выраженное увеличение на 13,5% ($p<0,01$) отмечено в области дистального эпифиза бедренной кости и на 6,7% ($p<0,05$) – в области тела шейного позвонка. Полученные данные свидетельствуют о начале активации процессов минерализации скелета под действием нанобентонита уже в ранний период постнатального онтогенеза.

В возрасте четырех недель сохранялась положительная динамика повышения показателей минеральной плотности костей у уток опытной группы. Особенно существенное различие наблюдалось в области средней части диафиза бедренной кости – прирост составил 27,8% по сравнению с контролем ($p<0,01$). Отмечали достоверное увеличение плотности дистального эпифиза бедра опытных уток на 18,1% ($p<0,01$), увеличение показателя в шейном позвонке на 3,9% ($p<0,05$) в сравнении с контрольными аналогами, что подтверждает воздействие нанобентонита на развитие процессов остеогенеза (табл. 2).

К пятинедельному возрасту наблюдали дальнейшее увеличение минеральной плотности костной ткани у уток опытной группы. Разница между опытной и контрольной группами продолжает сохранятся и расширяется в большинстве исследуемых областей. Особенно значительные изменения наблюдаются в дистальном эпифизе бедренной кости, увеличение ее

плотности составляет на 13,3% ($p<0,01$), в проксимальном эпифизе локтевой кости на 9,3%, шейного позвонка – на 3,9%, в сравнении с контрольными сверстниками. Полученные данные подтверждают продолжающийся эффект остеогенной стимуляции под влиянием нанобентонита (табл. 3).

К 6 неделе постэмбрионального развития минеральная плотность костной ткани уток опытной группы оставалась выше по сравнению с контрольными аналогами. Наиболее выраженные различия сохранялись в области бедренной кости: дистальный эпифиз превосходил контрольные значения на 13,5% ($p<0,01$), средняя часть диафиза – на 6,5% ($p<0,05$). Аналогичная тенденция отмечена и в других участках: плотность тела шейного позвонка увеличилась на 6,8%, а в области плечевой и локтевой костей – на 6,3% и 13,6% соответственно (табл. 4).

Таблица 1 – Минеральная плотность костной ткани уток в возрасте 3 недели (M±m, px)

Область определения	Контрольная группа (n=5)	Опытная группа (n=5)
Тело шейного позвонка (6 позвонок)	429,90±14,21	487,34±7,01
Плечевая кость: диафиз и дистальный эпифиз	228,33±13,14	255,83±13,23
Локтевая кость: диафиз и проксимальный эпифиз	235,03±14,49	256,67±12,37
Бедренная кость: середина диафизарного участка	222,33±14,52	231,50±13,59
Бедренная кость: диафиз и дистальный эпифиз	248,93±11,34	277,60±21,67

Таблица 2 – Минеральная плотность костной ткани уток в возрасте 4 недели (M±m, px)

Область определения	Контрольная группа (n=5)	Опытная группа (n=5)
Тело шейного позвонка (6)	480,73±8,41	499,33±10,75
Плечевая кость: диафиз и дистальный эпифиз	308,13±2,65	315,47±16,32
Локтевая кость: диафиз и проксимальный эпифиз	276,60±7,39	277,20±9,12
Бедренная кость: середина диафизарного участка	223,66±8,14	285,80±5,92
Бедренная кость: диафиз и дистальный эпифиз	262,43±7,80	309,93±7,40

Таблица 3 – Минеральная плотность костной ткани уток в возрасте 5 недели (M±m, px)

Область определения	Контрольная группа (n=5)	Опытная группа (n=5)
Тело шейного позвонка (6 позвонок)	501,50±10,66	521,33±10,27
Плечевая кость: диафиз и дистальный эпифиз	318,83±14,15	336,10±14,10
Локтевая кость: диафиз и проксимальный эпифиз	288,90±20,23	315,86±7,05
Бедренная кость: середина диафизарного участка	261,63±2,93	290,26±10,20
Бедренная кость: диафиз и дистальный эпифиз	300,02±8,28	339,93±14,84

Таблица 4 – Минеральная плотность костной ткани уток в возрасте 6 недели (M±m, px)

Область определения	Контрольная группа (n=5)	Опытная группа (n=5)
Тело шейного позвонка (6)	497,10±8,67	530,67±23,66
Плечевая кость: диафиз и дистальный эпифиз	323,47±3,95	344,07±10,25
Локтевая кость: диафиз и проксимальный эпифиз	292,76±7,80	332,47±8,75
Бедренная кость: середина диафизарного участка	297,03±8,87	316,31±10,10
Бедренная кость: диафиз и дистальный эпифиз	311,10±9,45	353,11±5,41

Результаты исследования свидетельствуют о том, что применение наночастиц бентонита положительно влияет на процессы остеогенеза у сельскохозяйственной птицы, в том числе при воздействии в период эмбрионального развития. Полученные данные согласуются с современными представлениями о высокой биологической активности наноматериалов, способных преодолевать биологические барьеры и оказывать модулирующее воздействие на клеточный метаболизм [4].

В условиях интенсивного птицеводства одной из актуальных проблем остаётся нарушение минерального обмена и, как следствие, развитие остеодистрофий. В этой связи применение биодоступных остеотропных добавок на ранних этапах онтогенеза приобретает особую значимость [2]. Нанобентонит, обладая высокой ионообменной ёмкостью и значительным содержанием кремния, алюминия, кальция и железа, может рассматриваться как перспективный компонент минеральной профилактики [5].

Наблюдавшееся достоверное повышение минеральной плотности костной ткани у уток в опытной группе, особенно в таких областях, как бедренная кость и позвонки, подтверждает остеотропный эффект наночастиц бентонита. Сходные данные были получены в исследованиях на курах мясного направления продуктивности при применении глинистых минералов, таких как бентонит и цеолит [10]. Использование наноформы бентонита обеспечило более выраженный эффект, за счёт лучшей биодоступности и более активного вовлечения в обменные процессы [11].

Включение наночастиц бентонита в программу эмбрионального воздействия представляется перспективным направлением, так как именно в этот период происходит закладка систем костеобразования. Подобные подходы с использованием наноформ кальция, фосфора и других микроэлементов ранее успешно апробированы в экспериментах на цыплятах и установлено повышение плотности костной ткани, улучшение морфометрических показателей и повышение сохранности поголовья [4, 6].

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Рентгенологические исследования костной системы уток в динамике показали, что применение наночастиц бентонита в период эмбрионального развития оказывает выраженное положительное влияние на процессы остеогенеза. Проведённый анализ рентгенограмм уток в возрасте 3, 4, 5 и 6 недель выявил устойчивое повышение минеральной плотности костной ткани в различных анатомических зонах у уток опытной группы по сравнению с контролем. Наиболее выраженные изменения наблюдали в бедренной, плечевой костях и шейных позвонках, что указывает на системное действие препарата.

Нанобентонит, благодаря своим ионообменным и остеотропным свойствам, может эффективно использоваться в ветеринарной практике для стимуляции ко-

стеобразования и профилактики остеопатологий у сельскохозяйственной птицы. Введение суспензии бентонита на ранних этапах инкубации, а также возможность дальнейшего применения в кормлении открывают перспективы для его промышленного внедрения в птицеводстве. Полученные результаты позволяют рекомендовать использование нанобентонита как доступного и биологически безопасного средства улучшения минерального обмена и увеличения прочности костной ткани у водоплавающей птицы.

PHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF OSTEOGENESIS ENHANCEMENT IN DUCKS UNDER THE INFLUENCE OF BENTONITE NANOPARTICLES DURING EMBRYOGENESIS

Todoroski K.[1] – PhD in Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Physical Education, Sports and Media Communications (ORCID 0000-0003-4908-4316); Ezhkova A.M.[2] – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Physiology and Pathological Physiology (ORCID 0000-0002-5526-2214), Ezhkov V.O.[2] – Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Physiology and Pathological Physiology (ORCID 0000-0001-6476-6054)

[1] Moscow City University

[2] Kazan State Agrarian University

*kiriltodoroski96@gmail.com

ABSTRACT

This study investigates the effect of a nanosuspension of modified bentonite from the Tarn-Var deposit (Republic of Tatarstan, Russia) on the bone mineral density of ducks when applied to incubation eggs during embryogenesis. The experiment was conducted on 60 Pekin duck eggs, evenly divided into control and experimental groups. The eggs in the experimental group were treated with a 20% bentonite nanosuspension on the 7th and 13th days of incubation, corresponding to the critical stages of skeletal tissue formation and mineralization [1]. After hatching, 20 ducklings were selected from each group, and radiological analysis was performed on five individuals per group at 3–6 weeks of age. Radiographs were taken in the ventrodorsal projection, followed by digital brightness analysis in 256 grayscale levels and statistical processing of the data (Student's t-test, $p<0.05$). The results demonstrated a statistically significant increase in bone mineral density in ducklings from the experimental group across all studied anatomical regions, including the cervical vertebral body and the diaphyses and epiphyses of the humerus, ulna, and femur. The most pronounced effect was observed in the distal epiphysis of the femur (an increase of approximately 13–28% across different age intervals, $p<0.01$) and in the mid-diaphyseal region of the femur. The positive trend persisted throughout the observation period (3–6 weeks), indicating a prolonged osteotropic effect of the nanobentonite. The findings confirm the high bioavailability and potential of bentonite nanostructures for stimulating osteogenesis and improving skeletal strength in waterfowl. The method of treating incubation eggs with a bentonite nanosuspension can be considered a promising approach for preventing bone pathologies and for further applied research in veterinary and poultry science.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Тодороски К. Мясная продуктивность и санитарно-гигиеническая оценка качества мяса уток при применении наноструктурного бентонита в кормлении и обработке инкубируемых яиц: дис. ... канд. биол. наук. Москва, 2023. 159 с. EDN LRGYDV.

2. Власенко А.А., Семененко М.П., Кузьминова Е.В. Сравнительный анализ биофизических свойств костной ткани цыплят-бройлеров при использовании остеотропных соединений // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. 2022. № 2(66). С. 306–313. DOI: 10.32786/2071-9485-2022-02-38.

3. Nadziakiewicz M., Micek P., Wojtysiak D. Effects of dietary halloysite supplementation on broiler chicken's blood parameters, carcass and meat quality, and bone charac-

teristics: a preliminary study // Annals of Animal Science. 2023;23(1):129–139. DOI: 10.2478/aoas-2022-0037.
4. Danchuk O., Levchenko A., da Silva Mesquita R., et al. Development of nanomaterials for veterinary medicine (Review) // Pharmaceutics. 2023;15(9):2326. DOI: 10.3390/pharmaceutics15092326.
5. Chung Y.H., Choi I.H. Comparison of bentonite and illite on the growth performance and litter quality of duck // Advances in Animal and Veterinary Sciences. 2019;7 (6):522–525. DOI: 10.17582/ journal.aavs/2019/7.6.522.525.
6. Ghazalah A.A., Abd-Elsamee M.O., Moustafa K.E.M.E., Khattab M.A., Rehan A.-E.A.A. Effect of nanosilica and bentonite as mycotoxins adsorbent agent in broiler chickens' diet on growth performance and hepatic histopathology // Animals. 2021;11 (7):2129. DOI: 10.3390/ani11072129.
7. Ежков В.О., Яппаров А.Х., Нефедьев Е.С., Ежкова А.М., Яппаров И.А., Герасимов А.П. Наноструктурные минералы: получение, химический и минеральный составы, структура и физико-химические свойства // Вестник Казанского технологического университета. 2014;17(11):41–44.
8. Дьячкова Г.В., Климов О.В., Аранович А.М., Дьячков К.А. Новые возможности изучения дистракционного регенерата по данным рентгенографии // Гений ортопедии. 2015;(3).
9. Biesek J., Banaszak M., Adamski M. Ducks' growth, meat quality, bone strength, and jejunum strength depend on zeolite in feed and long-term factors // Animals. 2021;11(4):1015. DOI: 10.3390/ ani11041015.
10. Matuszewski A., Łukasiewicz M., Niemiec J., Jaworski S., et al. Effect of in ovo application of hydroxyapatite nanoparticles on chicken embryo development, oxidative status and bone characteristics // Archives of Animal Nutrition. 2020;74(5):343–361. DOI: 10.1080/1745039X.2020.1803033.
11. Matuszewski A., Łukasiewicz M., Niemiec J., et al. Calcium carbonate nanoparticles – toxicity and effect of in ovo inoculation on chicken embryo development, broiler performance and bone status // Animals. 2021;11(4):932. DOI: 10.3390/ani11040932.

REFERENCES

1. Todoroski K. Meat productivity and sanitary-hygienic assessment of duck meat quality when using nanostructured bentonite in feeding and incubation egg treatment [dissertation for Candidate of Biological Sciences]. Moscow; 2023. 159 p. EDN LRGYDV. (In Russ.)
2. Vlasenko A.A., Semenenko M.P., Kuzminova E.V. Comparative analysis of biophysical properties of broiler chicken bone tissue when using osteotropic compounds. Izvestiya Nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa: nauka i vysshee professional'noe obrazovanie. 2022; (2(66)):306–313. DOI: 10.32786/2071-9485-2022-02-38. (In Russ.)
3. Nadziakiewicz M., Micek P., Wojtysiak D. Effects of dietary halloysite supplementation on broiler chicken's blood parameters, carcass and meat quality, and bone characteristics: a preliminary study. Ann Anim Sci. 2023;23(1):129–139. DOI: 10.2478/aoas-2022-0037.
4. Danchuk O., Levchenko A., da Silva Mesquita R., et al. Development of nanomaterials for veterinary medicine (Review). Pharmaceutics. 2023;15(9):2326. DOI: 10.3390/pharmaceutics15092326.
5. Chung Y.H., Choi I.H. Comparison of bentonite and illite on the growth performance and litter quality of duck. Adv Anim Vet Sci. 2019;7(6):522–525. DOI: 10.17582/ journal.aavs/2019/7.6.522.525.
6. Ghazalah A.A., Abd-Elsamee M.O., Moustafa K.E.M.E., Khattab M.A., Rehan A.-E.A.A. Effect of nanosilica and bentonite as mycotoxins adsorbent agent in broiler chickens' diet on growth performance and hepatic histopathology. Animals. 2021;11 (7):2129. DOI: 10.3390/ani11072129.
7. Ezhkov V.O., Yapparov A.Kh., Nefedyev E.S., Ezhkova A.M., Yapparov I.A., Gerasimov A.P. Nanostructured minerals: production, chemical and mineral composition, structure, and physicochemical properties. Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta. 2014;17(11):41–44.

(In Russ.)
8. Dyachkova G.V., Klimov O.V., Aranovich A.M., Dyachkov K.A. New opportunities for studying distraction regenerate based on radiographic data. Geniy ortopedii. 2015;(3). (In Russ.)
9. Biesek J., Banaszak M., Adamski M. Ducks' growth, meat quality, bone strength, and jejunum strength depend on zeolite in feed and long-term factors. Animals. 2021;11(4):1015. DOI: 10.3390/ani11041015.
10. Matuszewski A., Łukasiewicz M., Niemiec J., Jaworski S., et al. Effect of in ovo application of hydroxyapatite nanoparticles on chicken embryo development, oxidative status and bone characteristics. Arch Anim Nutr. 2020;74(5):343–361. DOI: 10.1080/1745039X.2020.1803033.
11. Matuszewski A., Łukasiewicz M., Niemiec J., et al. Calcium carbonate nanoparticles – toxicity and effect of in ovo inoculation on chicken embryo development, broiler performance and bone status. Animals. 2021;11(4):932. DOI: 10.3390/ani11040932.

УДК: 636.2/.294:591.44
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.325

МИКРОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОПЫТЕЦ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И ЛОСЯ

Фаттахов А.К.[*] – преподаватель-исследователь (ORCID 0000-0003-4142-0469); **Белогуров В.В.** – канд. ветеринар. наук, доц. каф. ветеринарной хирургии (ORCID 0000-0003-0204-3808); **Борхунова Е.Н.** – д-р биол. наук, зав. каф. анатомии и гистологии животных имени профессора А.Ф. Климова (ORCID 0000-0003-2355-8616).

ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина

[*] fattakhov@mgavm.ru

Ключевые слова: *копытцевая капсула, микроморфология, крупный рогатый скот, лось, роговой слой.*

Key words: *hoof capsule, micromorphology, cattle, moose, keratin layer.*

Поступила: 23.06.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Копытцевая капсула жвачных представляет собой анатомически и функционально сложное образование, обеспечивающее защиту и поддержку дистального отдела конечностей. Она включает в себя различные по строению и функциям зоны, каждая из которых играет определённую роль в распределении нагрузки, амортизации и обеспечении стабильности при движении. Целью настоящего исследования являлось сравнительное морфологическое изучение микроструктуры копытца у крупного рогатого скота (КРС) и лося. Методологически работа основана на световой микроскопии, окрашивании срезов гематоксилин-эозином и по Ван-Гизону. Исследование охватывало анализ микроструктурных особенностей эпидермиса, дермы, подкожной клетчатки, сосочков и листочков в анатомических зонах каймы, венчика, стенки, подошвы и мякиша. Особое внимание уделено соотношению рогового и подкожного слоёв, степени выраженности сосочковых структур, плотности соединительной ткани, васкуляризации, а также степени кератинизации и структурной организованности. Установлены как общие морфофункциональные закономерности, так и выраженные видовые различия. У лося выявлена большая толщина рогового слоя и более развитые сосочковые структуры, отражающие адаптацию к условиям дикой среды и повышенную мобильность животного в сложных ландшафтах. Характерной чертой служит также наличие рыхлой, васкуляризированной дермы в зоне мякиша. У КРС структура рогового вещества более плотная, упорядоченная, с чётко выраженной границей между эпидермисом и дермой, что соответствует условиям одомашнивания и стабильной механической нагрузки, характерной для сельскохозяйственных условий. Различия касаются не только степени ороговения, но и организации сосочковых и листочковых элементов, а также выраженности коллагеновых волокон в дерме и степени их упорядоченности, что отражает разные биомеханические и экологические требования к копытцу у этих видов.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Копытцевая капсула играет ключевую роль в обеспечении опорно-амортизационной функции конечности у парнокопытных животных. Сложная морфофункциональная организация эпидермальных и соединительнотканных структур обеспечивает прочность и адаптивность к различным видам нагрузки, включая статическую и динамическую, а также к условиям различной влажности и температуры. В научной литературе подробно описаны особенности микроморфологии копытца домашних жвачных, в частности крупного рогатого скота (КРС) [1, 2, 5], однако данные по диким видам, включая лося (Alces alces), крайне ограничены и представлены фрагментарно [7]. Лось, как представитель таёжной фауны, предъявляет особые требования к прочности и амортизационной способности копытец в условиях болотистых, пересечённых и часто нестабильных ландшафтов, что определяет специфику микроструктуры его копытцевой капсулы [7, 9].

Сравнительный морфологический анализ позволяет выявить адаптивные механизмы, обусловленные экологическими условиями обитания, а также патологические изменения, важные для диагностики и лечения заболеваний копытец, что делает его потенциально ценным инструментом в ветеринарной практике [3, 4, 6]. Кроме того, понимание межвидовых различий может способствовать разработке профилактических и лечебных мероприятий, направленных на сохранение здоровья и функциональности конечностей как домашних, так и диких животных. Целью настоящего исследования является установление микроморфологических особенностей и межвидовых различий копытцевой капсулы лося и КРС, что расширит научные представления о структуре и адаптации копытец у различных видов парнокопытных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Для исследования использовали образцы копытцевых капсул, полученные от крупного рогатого скота (КРС) и лосей в рамках плановой утилизации, что позволило избежать дополнительного забоя и обеспечило этическую сторону эксперимента. Объектами исследования являлись анатомически значимые участки копытцевой капсулы: кайма, венчик, стенка, подошва и мякиш. Эти зоны были выбраны с учётом их функциональной значимости и различий в нагрузке, что важно для комплексного понимания морфофункциональных особенностей. Материал фиксировали в 10% нейтральном буферном формалине для сохранения структурных особенностей тканей и предотвращения их деградации. После фиксации образцы подвергали стандартным этапам гистологической обработки: обезвоживанию в спиртовой серии, просветлению ксилолом, заливке в парафин и изготовлению микроскопических срезов толщиной 5–7 мкм, оптимальной для качественного изучения микроструктуры тканей.

Для выявления различных компонентов ткани использовали два типа окрашивания: гематоксилин-эозин, позволяющий детально рассмотреть общую гистологическую структуру, включая ядра клеток и цитоплазму, и окрашивание по Ван-Гизону, выделяющее коллагеновые волокна и соединительную ткань, что критично для оценки структурной организации дермы и подкожной клетчатки. Микроскопия проводилась при трёх основных увеличениях — ×40, ×100 и ×400, что позволило изучать как общую архитектуру капсулы, так и мелкие детали, такие как морфология отдельных клеток и особенности рогового слоя.

Исследование охватывало изучение всех слоёв капсулы: эпидермиса с его роговым и подкожным слоями, дермы, подкожной клетчатки, а также сосочковых и листочковых структур, играющих ключевую роль в распределении нагрузки и кровоснабжении тканей. Такой подход позволил выявить как общие закономерности, так и специфические адаптивные особенности микроструктуры, обусловленные биомеханическими и экологическими условиями. Результаты дают воз-

можность глубже понять структурные и функциональные различия копытцевых капсул у домашних и диких парнокопытных, что имеет значение для ветеринарной морфологии и практики.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В области каймы у обоих исследованных видов — лося (Alces alces) и крупного рогатого скота (Bos taurus) — выявлена типичная эпидермально-дермальная организация тканей, характерная для копытцевой капсулы, с четко выраженным роговым слоем, часто именуемым «глазурью» (Рис.1, 2). Этот роговой слой выполняет защитную функцию, формируя твердую, но при этом эластичную поверхность, устойчивую к износу и механическим воздействиям среды обитания. В частности, у лося глазурь оказалась значительно толще — достигая до 50 микрометров, а по структуре она была более рыхлой с выраженными дермальными сосочками, ориентированными под углом к поверхности. Такая анатомическая особенность, вероятно, служит адаптацией к условиям обитания лося, где субстрат зачастую переувлажнен, что требует повышения прочности и одновременно эластичности рогового слоя для предотвращения растрескивания и излишнего проникновения влаги [7, 9]. С другой стороны, у крупного рогатого скота глазурь была тоньше и плотнее, что связано с особенностями среды обитания и эксплуатацией копытец в условиях более стабильного и менее влажного субстрата.

Таблица 1 – Сравнительные микроморфологические характеристики копытцевой капсулы у крупного рогатого скота и лося

Структура копытца	Параметры и признаки	Крупный рогатый скот (КРС)	Лось
Кайма	Ширина	5,5±1,5 мм	5,5±1,5 мм
	Глазурь	Тонкая, плотная	Более толстая, рыхлая
	Сосочки	Редкие, длина 1,1±0,1 мм	Более выраженные, под углом
Венчик	Сосочки	Вертикальные, до 1,8 мм	Под углом, более длинные
	Рог венчика	Менее выражен	Мощный, толстый слой
	Сосудистое кольцо	Присутствует	Присутствует
Стенка	Листочки эпидермиса и дермы	Менее плотные, высота до 4 мм на дорсальной стенке	Плотные, выраженные, выше
	Толщина рогового слоя (абаксиально/аксиально)	7 мм / 5,5±0,5 мм	Больше, чем у КРС
Подошва	Структура рогового слоя	Трубчатый и межтрубчатый рог	Более мощный слой, загнутые сосочки
	Толщина роговой пластины	3,0±0,5 мм	≥ 3,0 мм
Мякиш	Подкожный слой	Коллагеновые волокна, сосудисто-нервные пучки	Более выражен
	Наличие жировой ткани	Присутствует	Присутствует
	Толщина подушки	До 1,5 см	До 1,5 см
	Степень амортизации	Умеренная	Высокая

В зоне венчика, являющейся ключевой областью для распределения механической нагрузки и поддержки структуры копыта, у лося выявлены длинные и мощные сосочки, формирующие массивный трубчатый рог (Рис.3, 4). Данная морфологическая особенность обеспечивает надежную амортизацию и устойчивость к нагрузкам, которые характерны для передвижения по сложным ландшафтам и мягким, влажным почвам. У крупного рогатого скота сосочки венчика расположены преимущественно вертикально и выражены умеренно, что отражает адаптацию к более равномерному распределению веса при движении по твердому и зачастую искусственно подготовленному грунту. При этом сосудистое кольцо, которое обеспечивает питание тканей копытца, было обнаружено у обоих видов, что подтверждает сходство базовых физиологических механизмов кровоснабжения и поддержания жизнедеятельности копытцевой капсулы.

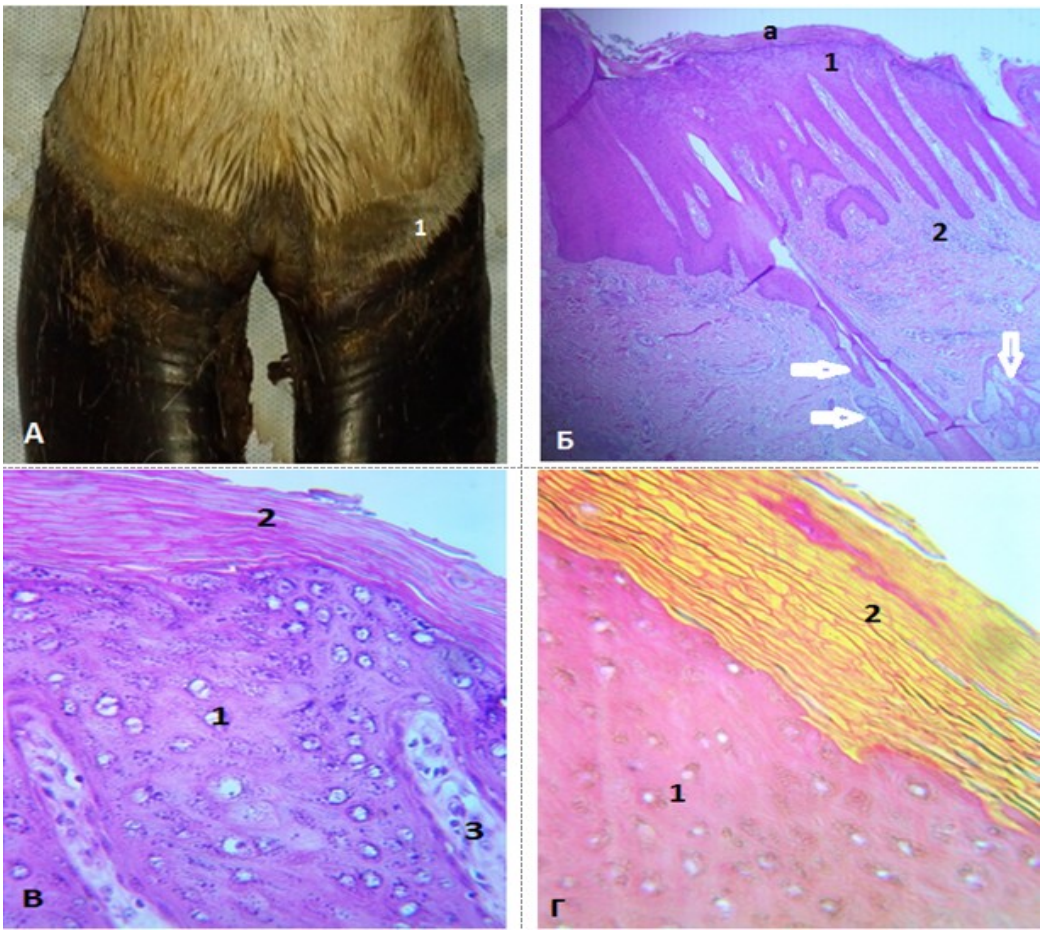


Рисунок 1 – Копытцевая кайма. Крупный рогатый скот. А – макрокартина, 1 – копытцевая кайма. Б – микропрепарат: 1 – эпидермис, а – роговой слой (глазурь), 2 -основа кожи, стрелками показаны волосяной фолликул и сальные железы. В, Г – в эпидермисе выражены типичные базальный шиповатый, зернистый, блестящий и роговой слои. Глазурь сформирована тонким плотным слоем рогового вещества. 1 – кератиноциты эпидермиса, 2 – роговой слой эпидермиса (глазурь). 3 – сосочки основы кожи. Б, В – гематоксилин и эозин, об.4, ок.10 и об.40, ок.10. Г – Ван-Гизон, об.40, ок.10.

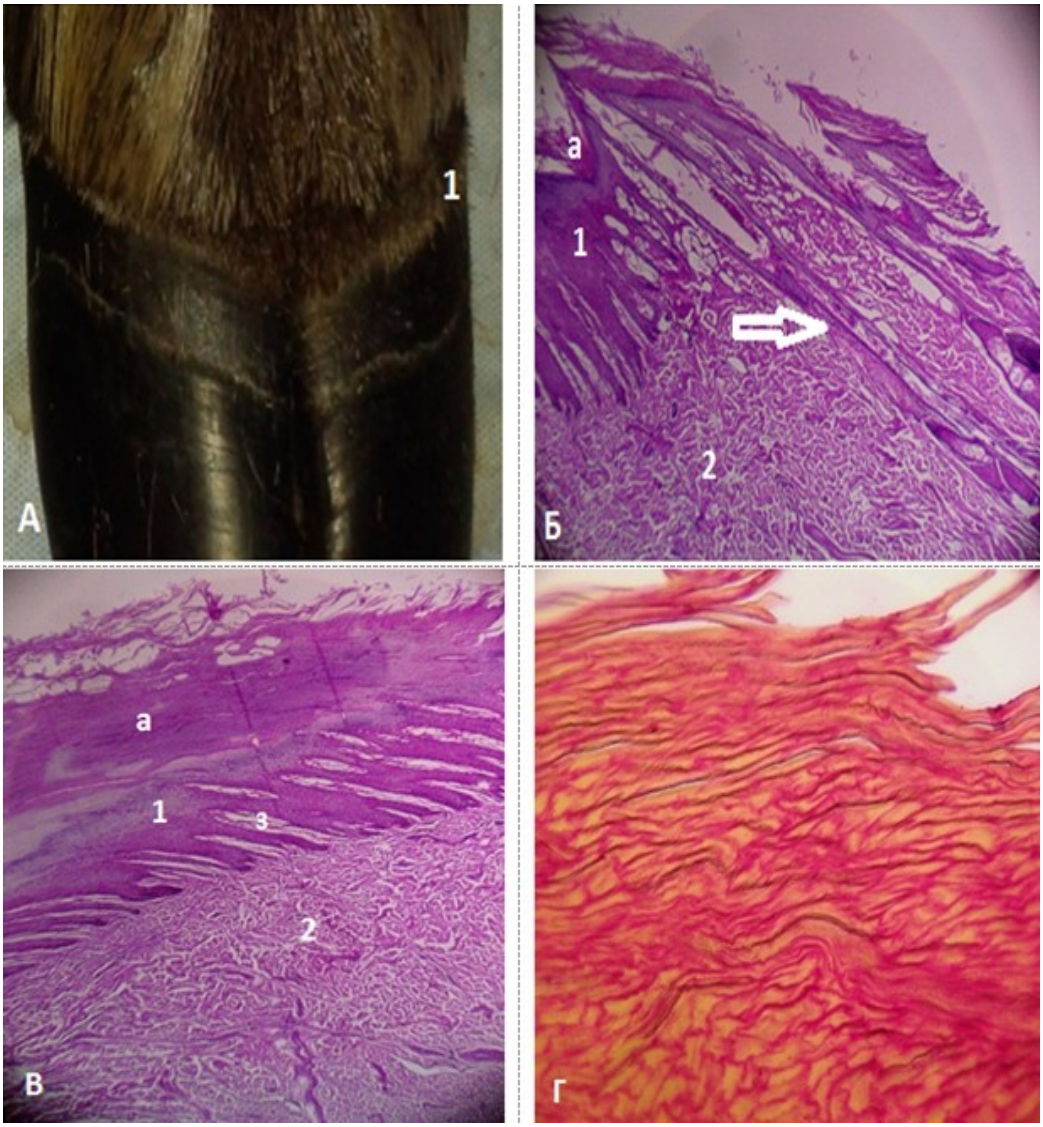


Рисунок 2 – Копытцевая кайма. Лось.
А – макрокартина, 1 – копытцевая кайма. Б – микропрепарат: 1 – эпидермис, а – роговой слой (глазурь), 2 -основа кожи, стрелками показаны волосяной фолликул и сальные железы. В – сосочки (3) расположены под углом, слой глазури более толстый, чем у крупного рогатого скота, и более рыхлый. Глазурь (а) сформирована тонким плотным слоем рогового вещества. 1 – эпидермис, 2 – основа кожи. Г – роговые чешуйки в глазури расположены плотно и образуют пласты. Б, В – гематоксилин и эозин, об.4, ок.10 и об.40, ок.10. Г – Ван-Гизон, об.40, ок.10.

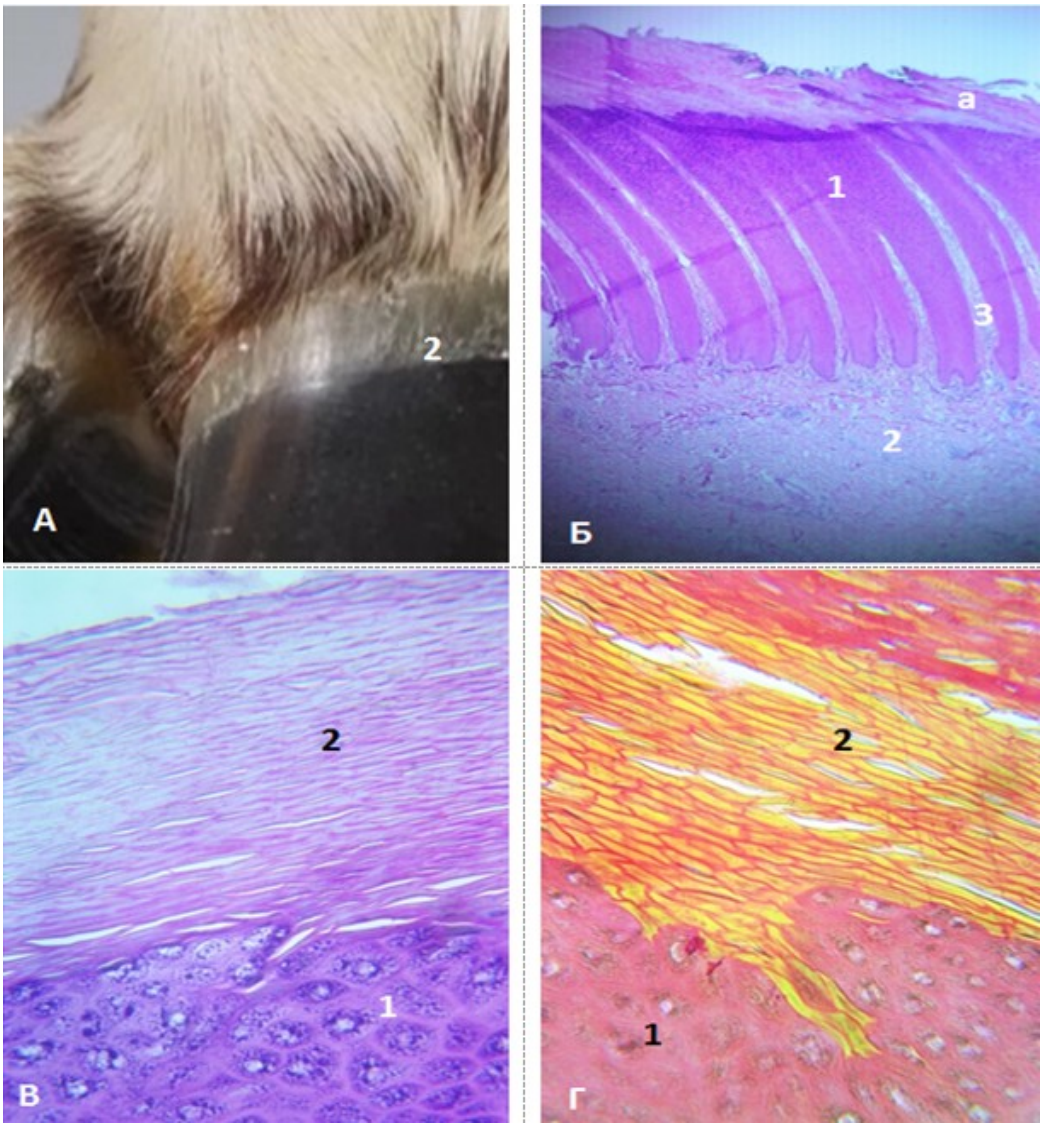


Рисунок 3 – Копытцевый венчик. Крупный рогатый скот.
А – макрокартина, 1 – копытцевый венчик. Б – микропрепарат: 1 – эпидермис, а – роговой слой, 2 -основа кожи. В, Г – в эпидермисе выражены типичные базальный шиповатый, зернистый, блестящий и роговой слои (1). Роговое вещество сформировано плотно расположенными роговыми чешуйками (2). Б, В – гематоксилин и эозин, об.4, ок.10 и об.40, ок.10. Г – Ван-Гизон, об.40, ок.10.

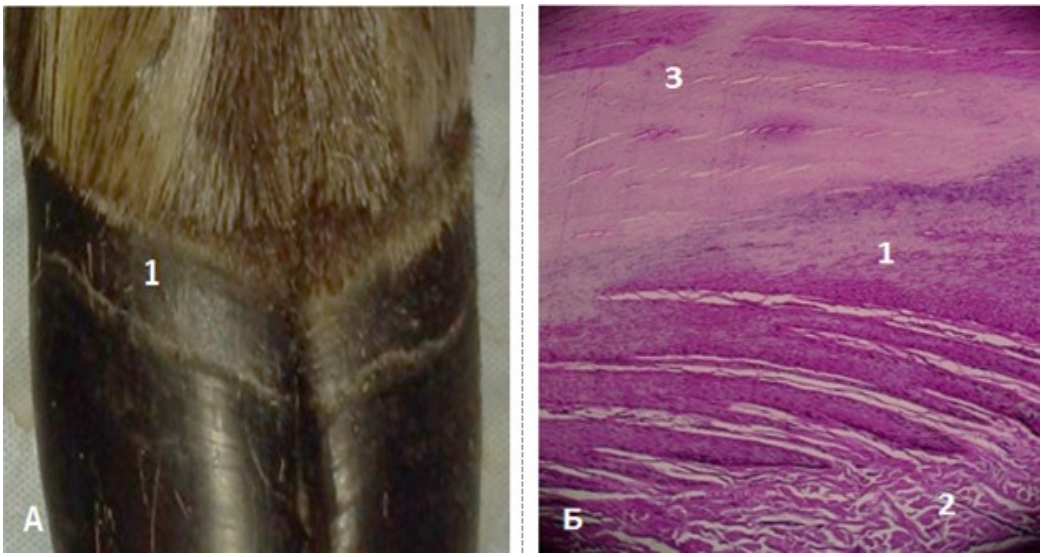


Рисунок 4 – Копытцевый венчик. Лось.
А – макрокартина, 1 – копытцевый венчик. Б – микропрепарат: 1 – эпидермис, а – роговой слой, 2 - основа кожи. Сосочки высокие и расположены под углом, роговое вещество формирует толстый слой, плотное. Гематоксилин и эозин, об.10, ок.10.

Стенка копытца, образованная эпидермальными и соединительнотканными листочками, также имела существенные различия между видами (Рис. 5). У лося листочки были выше и плотнее, особенно в дорсальной части копытца, а роговой слой отличался повышенной толщиной и неоднородностью структуры, что связано с необходимостью выдерживать более интенсивные и переменчивые нагрузки. У крупного рогатого скота листочки менее выражены, а структура рога более упорядоченная — преобладают вертикально ориентированные трубочки, обеспечивающие однородную жесткость и устойчивость к статическим нагрузкам [10, 11]. Такая анатомическая разница отражает виды адаптации к условиям среды и манере передвижения, что существенно влияет на морфологические характеристики копытцевой капсулы.

Подошва копытца у лося характеризовалась более мощным роговым слоем с извитой формой сосочков, что позволяет лучше распределять и амортизировать нагрузки при передвижении по мягким и влажным субстратам (Рис. 6, 7). У крупного рогатого скота подошва сформирована из трубчатого и межтрубчатого рога с прямолинейными сосочками, что указывает на адаптацию к более твердым поверхностям и необходимости сопротивляться износу при длительном стоянии и ходьбе по твердым покрытиям. Толщина роговой пластины подошвы у обоих видов составляла не менее 3 мм, что обеспечивает достаточную прочность и долговечность при эксплуатации в естественных условиях.

Мякиш представлен коллагеновыми волокнами, сосудисто-нервными пучками и жировой тканью (Рис. 8, 9). У лося мякиш был более развит, обладал большей амортизационной способностью, что связано с необходимостью смягчать удары при движении по неровным и мягким поверхностям, часто встречающимся в естественной среде обитания этого вида [1, 7]. У крупного рогатого скота мякиш имел менее выраженное строение, что соответствует менее динамическому характеру движения и более стабильной поверхности пастбищ и фермерских угодий.

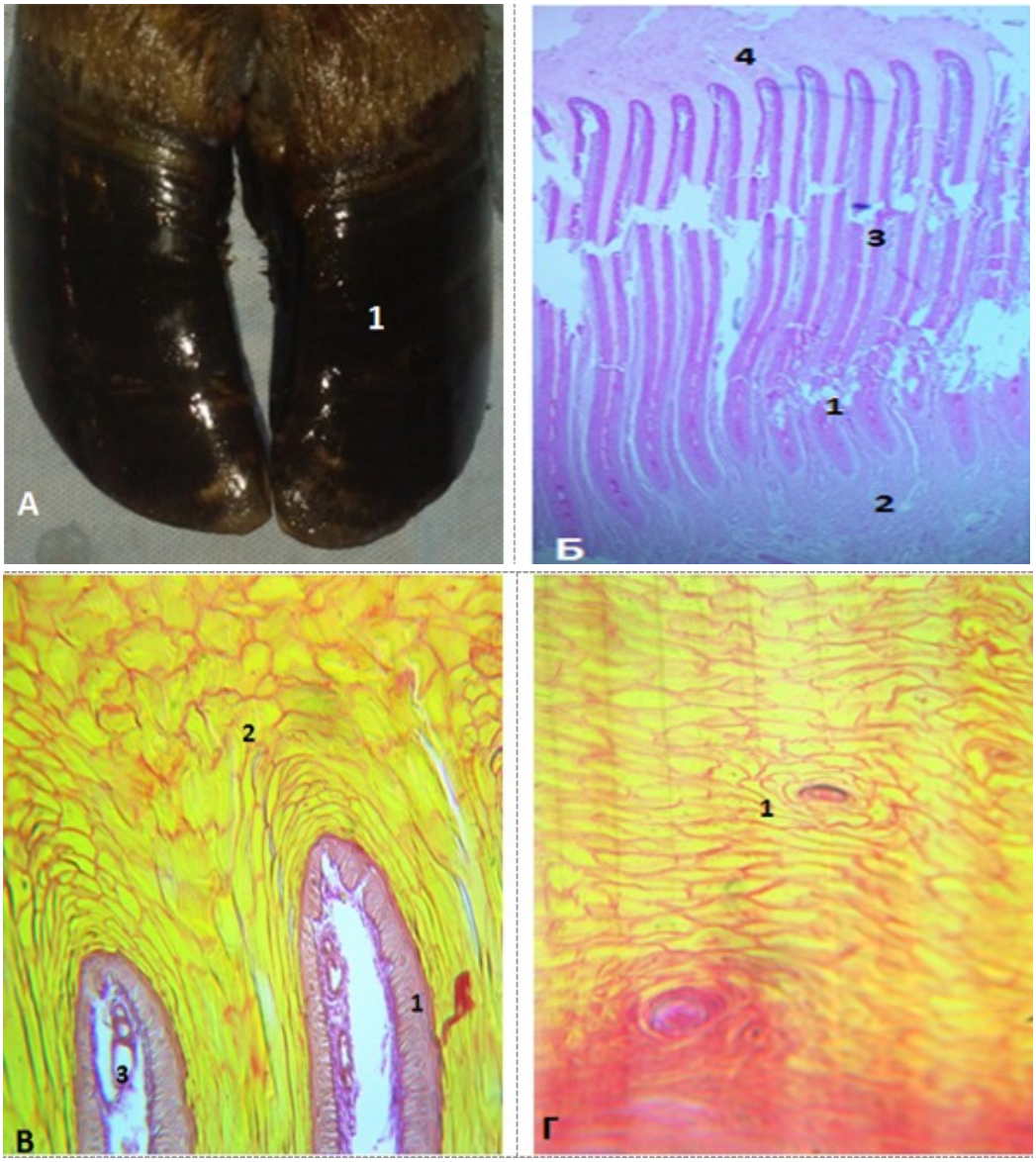
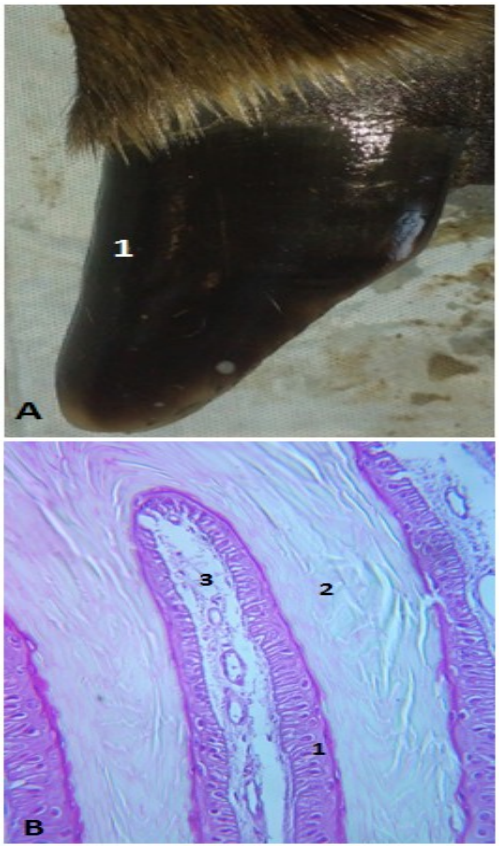


Рисунок 5 – Дорсальная стенка копытца. Крупный рогатый скот.
А – макрокартина, 1 – дорсальная стенка копытца. Б – микропрепарат:
1 – эпидермис, а – роговой слой, 2 - основа кожи. Сосочки высокие, расположены вертикально. В – эпидермис тонкий, зернистый и блестящий слой не идентифицируются, роговые чешуйки эпидермиса плотно расположены. Г - роговое вещество (1)
с роговыми трубочками и плотно расположенными роговыми чешуйками.
Б – гематоксилин и эозин, об.4, ок.10. В, Г– Ван-Гизон, об.40, ок.10.



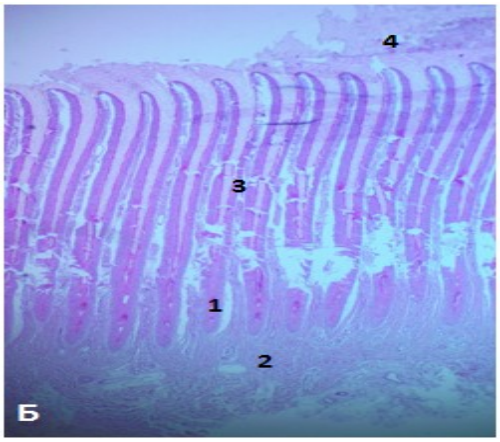
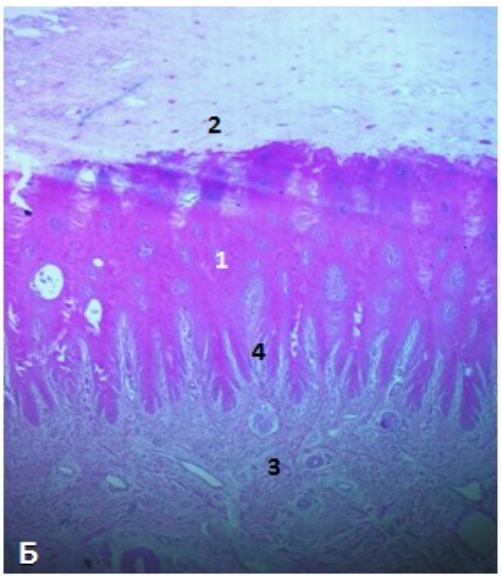


Рисунок 6 – Дорсальная стенка копытца. Лось.
А – макрокартина, 1 – дорсальная стенка копытца. Б – микропрепарат: 1 – эпидермис, а – роговой слой, 2 - основа кожи. 3 - листочки высокие, вертикально расположены, 4 – роговое вещество. В – эпидермис (1) тонкий, зернистый и блестящий слой не идентифицируются, 2 – роговое вещество, 3 - соединительнотканная основа листочка. Гематоксилин и эозин, Б - об.4, ок.10. В, Г – об.40, ок.10.



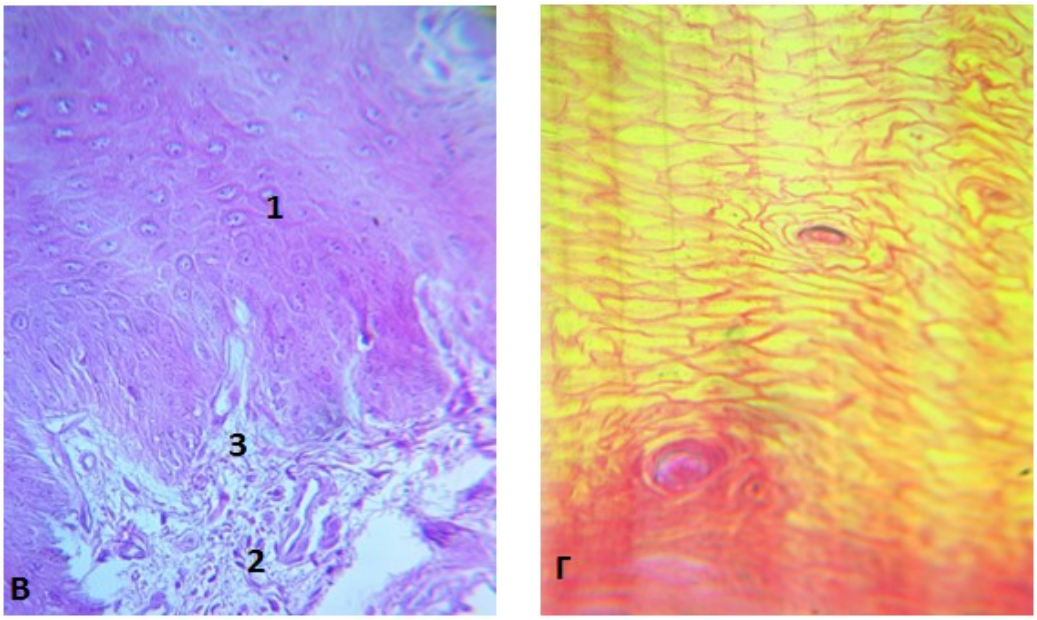
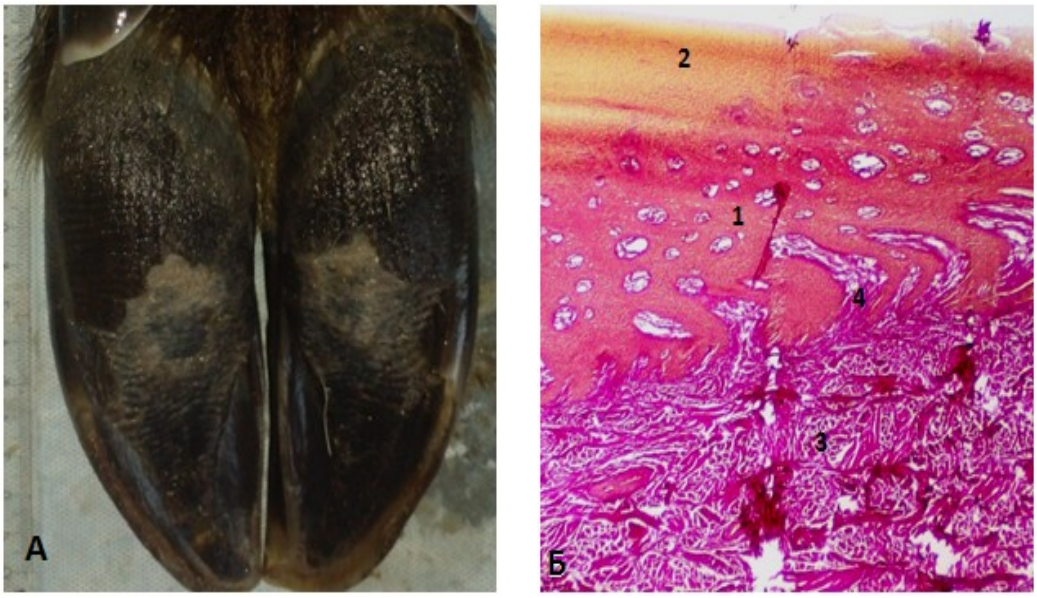


Рисунок 7 – Подошва копытца. Крупный рогатый скот.
А – макрокартина, 1 – подошва копытца. Б – микропрепарат: 1 – эпидермис, 2 – роговой слой, 3 - основа кожи, 4 - сосочки разветвленные, расположены вертикально. В – эпидермис (1) содержит типичные слои кератиноцитов, - основа кожи богато васкуляризована, 3 – соединительнотканный сосочек. Г - роговое вещество сформировано плотно расположенными роговыми чешуйками. Видны трубочки и межтрубчатый рог. Б – гематоксилин и эозин, об.4, ок.10. В, Г – Ван-Гизон, об.40, ок.10.



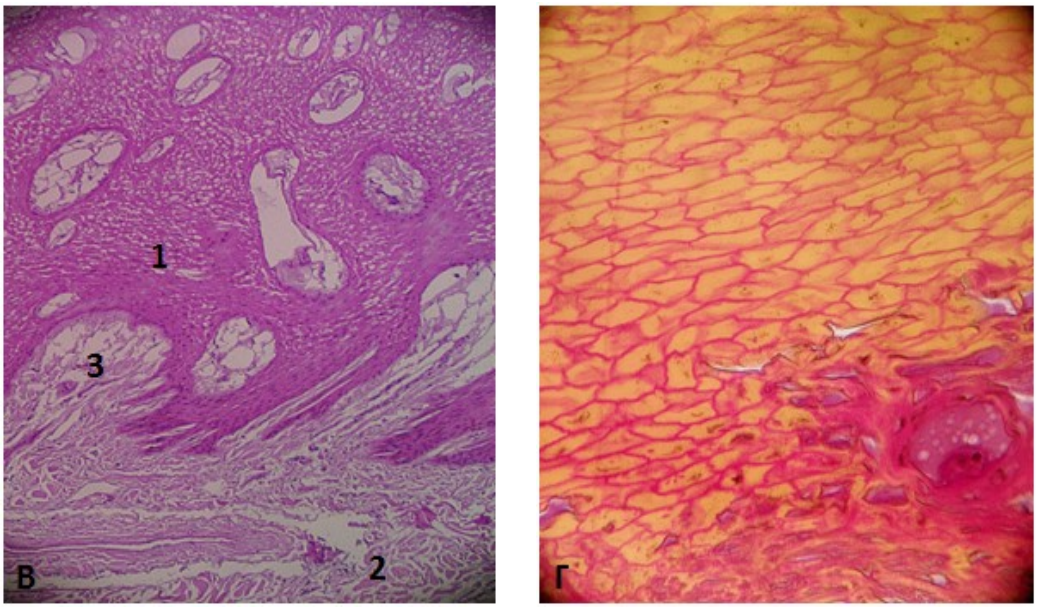
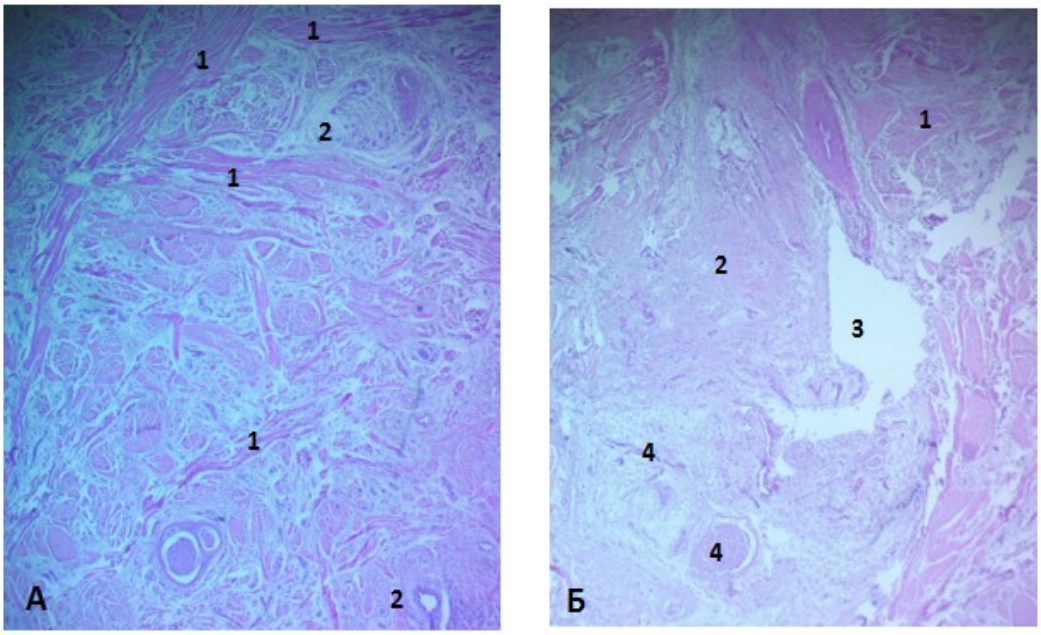


Рисунок 8 – Подошва копытца. Лось.
А – макрокартина, 1 – подошва копытца. Б – микропрепарат: 1 – эпидермис, 2 – роговой слой, 3 - основа кожи, 4 - сосочки загнуты. В – в роговом веществе (1) хорошо видны трубочки и межтрубчатый рог. 2 – основа кожи, 3 – сосочек. Г - роговое вещество сформировано плотно расположенными роговыми чешуйками. Б, В – Ван-Гизон, об.4, ок.10, об.40, ок.10. В – гематоксилин и эозин, об.10, ок.10.



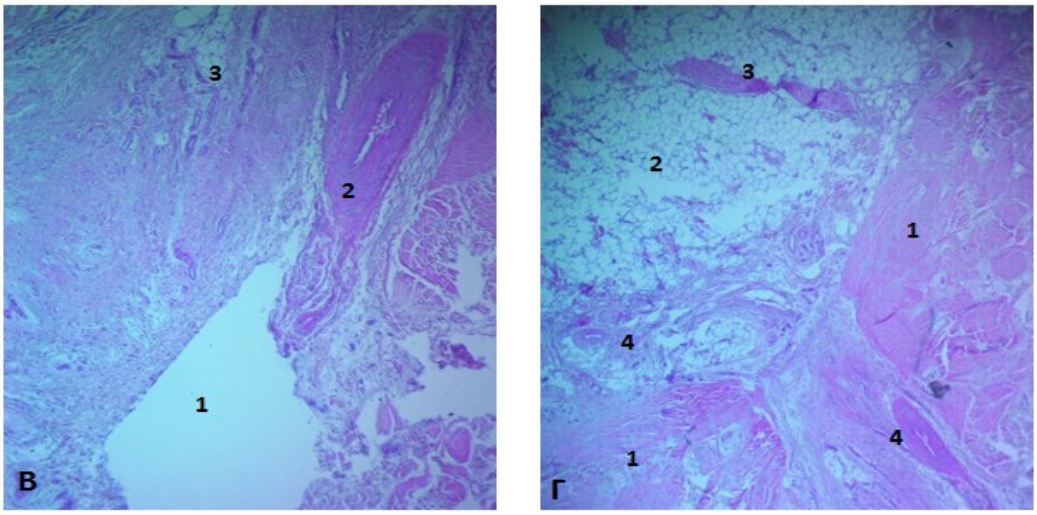
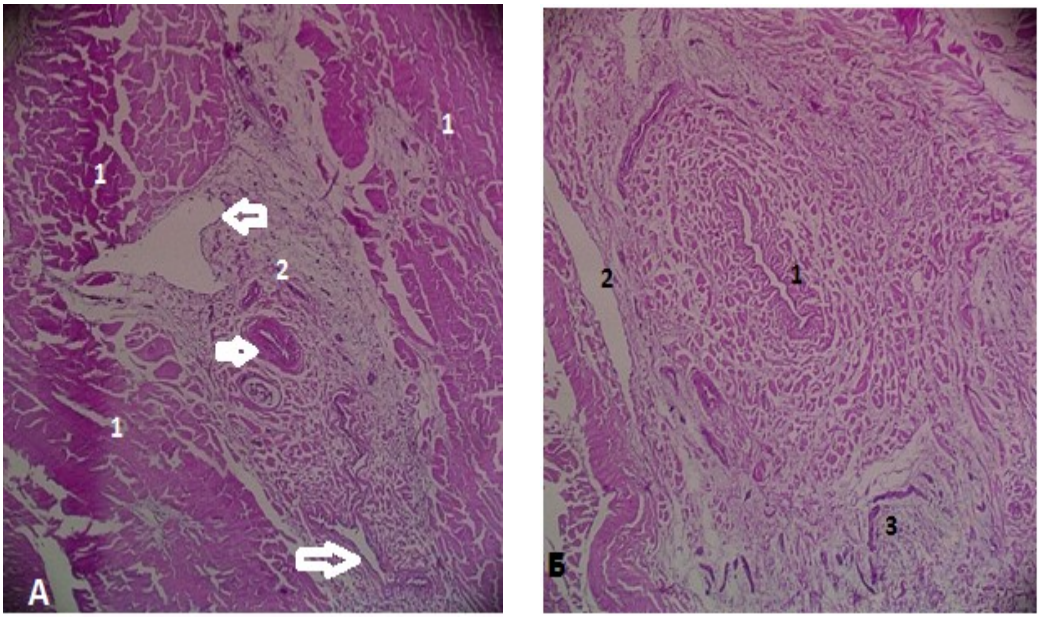


Рисунок 9 – Подушка мякиша. Крупный рогатый скот.
А - плотная неоформленная соединительная ткань (1), между пучками коллагеновых волокон (1) которой видны прослойки рыхлой соединительной ткани, содержащие крупные кровеносные и лимфатические сосуды, нервные стволики (2). Б – прослойка рыхлой соединительной ткани (2) среди пучков коллагеновых волокон (1) плотной соединительной ткани, 3 – лимфатический сосуд, 4 – нервные стволики разного калибра. В – в прослойке рыхлой соединительной ткани видны лимфатический сосуд (1), 2 – артерия, 3 – многочисленные нервные стволики около дольки жировой ткани. Г – белая жировая ткань (2), находящаяся среди пучков коллагеновых волокон плотной неоформленной соединительной ткани (1). 3 – нервный стволик, 4 – сосудисто-нервные пучки. Гематоксилин и эозин: А, Б, Г – об.10, ок.10, В – об.20, ок.10.



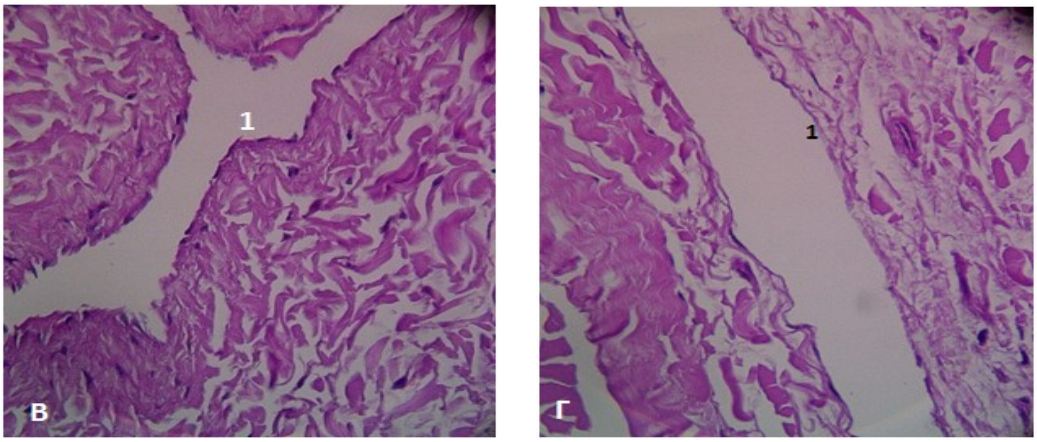


Рисунок 10 – Подушка мякиша. Лось.
А – среди пучков коллагеновых волокон плотной неоформленной соединительной ткани (1) видны прослойки рыхлой соединительной ткани (2). Стрелками показаны кровеносные и лимфатические сосуды, нервные стволики. Б – прослойка рыхлой соединительной ткани содержит кровеносные (1), лимфатические (2) сосуды и нервные стволики (3). В – венозный сосуд в составе мякиша. Г - лимфатический сосуд мякиша. Гематоксилин и эозин: А– об.10, ок.10, Б – об.20, ок.10, В, Г – об.40, ок.40.

Указанные морфологические особенности копытцевой капсулы отражают не только адаптационные стратегии каждого вида, но и оказывают существенное влияние на функциональные возможности и долговечность копытец. Более толстый и рыхлый роговой слой у лося позволяет избежать механического повреждения и проникновения патогенов в условиях повышенной влажности, тогда как упорядоченная структура рога и выраженная плотность листочков у крупного рогатого скота обеспечивают устойчивость к статическим нагрузкам и длительному стоянию.

Для более детального сравнения морфологических параметров капсулы копытцевой ткани лося и крупного рогатого скота представлена таблица 1, в которой сохранена структура исходных данных и приведены основные количественные показатели.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведённое морфологическое исследование позволило установить видовые особенности микроструктуры копытцевой капсулы у крупного рогатого скота и лося. Установлены различия в организации эпидермальных и соединительнотканных структур, преимущественно в виде более выраженных сосочков и большей толщины рогового слоя у лося. У крупного рогатого скота наблюдается более упорядоченное строение и меньшая выраженность рогового вещества. Эти данные подтверждают существование адаптивной морфологической дивергенции, обусловленной различиями в условиях содержания и типе двигательной активности. Полученные результаты могут служить морфологическим ориентиром при ветеринарной экспертизе и диагностике патологий копытец у домашних и диких жвачных. Микроморфологические критерии могут быть использованы для разработки дифференциальных признаков при исследовании воспалительных, дегенеративных и травматических поражений дистального отдела конечности.

MICROMORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF CATTLE AND ELK FOOTS

Fattakhov A.K.* – Research Lecturer (ORCID 0000-0003-4142-0469); **Belogurov V.V.** – Candidate of Veterinary Sciences,

Associate Professor, Department of Veterinary Surgery (ORCID ORCID 0000-0003-0204-3808); **Borkhunova E.N.** – Doctor of Biological Sciences, Head of the Department of Animal Anatomy and Histology named after Professor A.F. Klimov (ORCID 0000-0003-2355-8616).

Medicine Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology - Moscow Veterinary Academy named after K.I. Skryabin

*fattakhov@mgavm.ru

Financing: The materials were prepared as part of the postgraduate's research work.

ABSTRACT

The hoof capsule of ruminants is an anatomically and functionally complex formation that provides protection and support to the distal extremities. It includes zones with different structures and functions, each of which plays a role in load distribution, shock absorption, and stability during movement. The purpose of this study was a comparative morphological study of the hoof microstructure in cattle and moose. The study was based on light microscopy, hematoxylin-eosin staining, and Van Gieson staining. The study focused on analyzing the microstructural features of the epidermis, dermis, subcutaneous tissue, papillae, and leaflets in the anatomical zones of the border, corolla, wall, sole, and crumb. Special attention was given to the ratio of the horny and living layers, the degree of papillae expression, the density of the connective tissue, vascularization, and the degree of keratinization and structural organization. Both general morphofunctional patterns and pronounced species differences have been established. The moose has a thicker corneal layer and more developed papillae, reflecting its adaptation to the wild environment and increased mobility in challenging landscapes. Additionally, it has a loose, vascularized dermis in the crumb zone. In cattle, the structure of the horny substance is denser and more ordered, with a clearly defined boundary between the epidermis and the dermis, which corresponds to the conditions of domestication and the stable mechanical stress typical of agricultural environments. The differences are not only in the degree of keratinization, but also in the organization of the papillary and foliate elements, as well as the expression of collagen fibers in the dermis and their degree of order, which reflects the different biomechanical and environmental requirements for the hoof in these species.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Бурденюк, А. Ф. Болезни конечностей у продуктивных животных / А. Ф. Бурденюк. – Киев: Урожай, 1976. – 7 с.
2. Карпов, Н. В. О механической прочности копытного рога коров / Н. В. Карпов, С. А. Лобанов // Сб. научн. тр. Моск. ин-та инженеров с.-х. пр-ва. – 1980. – Т. 16. – № 9. – С. 37–38.
3. Кириллов, А. А. Практическое применение термографии в диагностике патологий стрелки копыта у лошадей / А. А. Кириллов, А. А. Стекольников, Е. С. Макарова // Международный вестник ветеринарии. – 2025. – № 1. – С. 373–381. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2025.1.373. – Режим доступа: https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2025.1.373
4. Лукина, Г. Р. Оценка эффективности копытных ванн при болезнях пальцев и копытец у коров / Г. Р. Лукина, Д. А. Хузин, Е. Ю. Тарасова, С. А. Юсупов, Р. М. Потехина, П. В. Быкова // Международный вестник ветеринарии. – 2025. – № 1. – С. 382–392. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2025.1.382. – Режим доступа: https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2025.1.382
5. Намсараев, С. Д. Морфологические особенности дистальных отделов конечностей крупного рогатого скота и лося / С. Д. Намсараев, С. Г. Долганова // Вестник АГАУ. – 2016. – Т. 138. – № 4.
6. Ненашев, И. В. Плоскостная характеристика заживления язвенных поражений в области копытец у крупного рогатого скота / И. В. Ненашев, Е. М. Марьин // Международный вестник ветеринарии. – 2025. – № 1. – С. 393–402. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2025.1.393. – Ре-

жим доступа: https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2025.1.393
7. Раднаев, В. М.-Д. Морфология копытец и мякишей номадных и диких жвачных / В. М.-Д. Раднаев. – 2002.
8. Фаттахов, А. К. Сравнительная рентгеноморфометрия дистального отдела конечностей лося и крупного рогатого скота / А. К. Фаттахов, В. В. Белогуров, Е. Н. Борхунова, И. Г. Рязанов // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2025. – Т. 1, № 4. – С. 49–56. – DOI 10.36871/vet.zoo.bio.202504106. – EDN VSHVEO.
9. Lehoczki, R. Iodine distribution in the environment as a limiting factor for roe deer antler development / R. Lehoczki et al. // Biol Trace Elem Res. – 2011. – Vol. 139, No. 2. – P. 168–176.
10. Prentice, D. E. Growth and wear rates of hoof horn in Ayrshire cattle / D. E. Prentice // Res Vet Sci. – 1973. – Vol. 14. – P. 285–290.
11. Toussaint Raven, E. Cattle Footcare and Claw Trimming / E. Toussaint Raven. – Ipswich, UK: Farming Press, 1992.

REFERENCES

1. Burdenyuk, A. F. Limb Diseases in Productive Animals / A. F. Burdenyuk. – Kiev: Urozhay, 1976. – 7 p.
2. Karpov, N. V. On the Mechanical Strength of Cows' Hooves / N. V. Karpov, S. A. Lobanov // Collection of Scientific Papers of the Moscow Institute of Agricultural Engineers. – 1980. – Vol. 16. – No. 9. – Pp. 37–38.
3. Kirillov, A. A. Practical application of thermography in the diagnostics of pathologies of the hoof arrow in horses / A. A. Kirillov, A. A. Stekolnikov, E. S. Makarova // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2025. – No. 1. – Pp. 373–381. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2025.1.373. – Access mode: https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2025.1.373
4. Lukina, G. R. Evaluation of the effectiveness of hoof baths in diseases of the fingers and hooves in cows / G. R. Lukina, D. A. Khuzin, E. Yu. Tarasova, S. A. Yusupov, R. M. Potekhina, and P. V. Bykova // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2025. – No. 1. – pp. 382-392. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2025.1.382. – Access mode: https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2025.1.382
5. Namsaraev, S. D. Morphological features of distal limbs of cattle and moose / S. D. Namsaraev, S. G. Dolganova // Vestnik AGAU. – 2016. – V. 138. – No. 4.
6. Nenashev, I. V. Plane characteristic of healing of ulcerative lesions in the area of hooves in cattle / I. V. Nenashev, E. M. Maryin // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2025. – No. 1. – Pp. 393–402. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2025.1.393. – Access mode: https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2025.1.393
7. Radnaev, V. M.-D. Morphology of Hooves and Pasterns of Nomadic and Wild Ruminants / V. M.-D. Radnaev. – 2002.
8. Fattakhov, A. K. Comparative X-Ray Morphometry of the Distal Limb of the Elk and Cattle / A. K. Fattakhov, V. V. Belogurov, E. N. Borkhunova, I. G. Ryazanov // Veterinary Medicine, Animal Husbandry, and Biotechnology. – 2025. – Vol. 1, No. 4. – Pp. 49–56. – DOI 10.36871/vet.zoo.bio.202504106. – EDN VSHVEO.
9. Lehoczki, R. Iodine distribution in the environment as a limiting factor for roe deer antler development / R. Lehoczki et al. // Biol Trace Elem Res. – 2011. – Vol. 139, No. 2. – P. 168–176.
10. Prentice, D. E. Growth and wear rates of hoof horn in Ayrshire cattle / D. E. Prentice // Res Vet Sci. – 1973. – Vol. 14. – P. 285–290.
11. Toussaint Raven, E. Cattle Footcare and Claw Trimming / E. Toussaint Raven. – Ipswich, UK: Farming Press, 1992.

УДК: 619:612.35
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.340

МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ РОЛЬ ОРГАНО-МИНЕРАЛЬНОЙ ДОБАВКИ КЛИМ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ПЕЧЕНИ У КРЫС

Анисимова К.А.* – канд. ветеринар. наук, доц. каф. патологической физиологии (ORCID 0000-0001-7966-9687); **Лукоянова Л.А.** – канд. ветеринар. наук, доц., доц. каф. патологической физиологии (ORCID 0000-0003-4785-9632)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

**k.lysova2012@yandex.ru*

Ключевые слова: *органические кислоты, печень, гепатит, моделирование, кровь, пищевая добавка, ферменты*
Keywords: *organic acids, liver, hepatitis, modeling, blood, nutritional supplement, enzymes*

Поступила: 15.06.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Применение кормовых добавок в ветеринарии в последнее время приобретает важное значение в связи с необходимостью снижения влияния негативных факторов внешней среды или действии факторов, возникающих при нарушении технологии содержания животных. Они способствуют улучшению общего состояния животных, а также их применение позволяет снизить затраты на лечение и повышают рентабельность хозяйств. Цель работы заключается в изучении влияния кормовой добавки Клим, на основные биохимические показатели крови печени крыс при моделировании острого токсического гепатита токсическим веществом – тетрахлорметаном (CCl4). Поиск и разработка новых гепатопротекторов является одной из важнейших задач в области фармакологии. Патогенез повреждения печени включает окислительный стресс, воспалительные процессы, апоптоз или некроз, дисфункцию митохондрий, холестаз, активацию звездчатых клеток печени и фиброз. Это даёт широкое поле для разработки гепатопротекторов, направленных на конкретные молекулярные пути (антиоксиданты, антивоспалительные агенты, антифибротики, модификаторы метаболизма и т.д.). Необходимость поиска и разработки новых гепатопротекторов для животных обоснована высокой распространённостью печёночных проблем в различных видах, значительными экономическими потерями в животноводстве, рисками для продовольственной безопасности, ограниченностью существующих, часто недостаточно доказанных средств, видоспецифичностью метаболизма и лекарственной реакции, а также важностью улучшения благополучия животных. Разработка безопасных, эффективных и адаптированных гепатопротекторов укрепит ветеринарную практику, снизит затраты и повысит качество продуктов животного происхождения. В работе показано, что применение пищевой добавки Клим при

остром токсическом отравлении способствует улучшению основных биохимических показателей крови при моделировании острого токсического гепатита у крыс.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Применение кормовых добавок в ветеринарии в последнее время приобретает важное значение в связи с необходимостью снижения влияния негативных факторов внешней среды или действии факторов, возникающих при нарушении технологии содержания животных. Они способствуют улучшению общего состояния животных, а также их применение позволяет снизить затраты на лечение и повышают рентабельность хозяйств [4, 10].

Органо-минеральные добавки представляют собой комплексные биологически активные смеси, содержащие макро- и микроэлементы в синергии с органическими компонентами, что обеспечивает их многофункциональное влияние на метаболические процессы [9, 11]. Только за последние годы вырос интерес к применению таких добавок для поддержания на должном уровне гомеостаза и повышения устойчивости организмов к действию стрессоров, включая токсические нагрузки, обусловленные лекарствами, химикатами или метаболическими нарушениями [2, 14]. Их потенциал обусловлен способностью обеспечивать субстраты и кофермменты для ключевых ферментативных систем печени, варьировать антиоксидантную защиту, корректировать минеральный баланс и увеличивать регенеративные процессы.

Печень, являясь ключевым органом метаболизма и детоксикации, участвует в регуляции обмена углеводов, липидов и белков, синтезирует белки плазмы крови, участвует в метаболизме ксенобиотиков и утилизации продуктов обмена [1, 3, 13]. Нарушение функции данного органа вследствие токсических, лекарственных или метаболических факторов приводит к системному нарушению гомеостаза, снижению адаптационных возможностей организма и может повлечь за собой прогрессирующие структурные изменения. Экспериментальная патофизиология подчёркивает актуальность изучения механизмов печёночного повреждения и разработки средств, которые помогут либо предотвратить, либо снизить его последствия у животных [5, 8].

Модель экспериментального поражения печени у крыс остаётся одной из ключевых платформ для оценки гепатопротекторного эффекта препаратов и добавок [6, 7, 12]. Мелкие грызуны характеризуются высокой репродуктивностью, однородностью популяций и удобством для детальной динамической оценки биохимических, клинических, гистологических и молекулярных параметров. Экспериментальные модели позволяют стандартизировать дозу и путь введения токсигента и контролировать временные параметры повреждения.

Цель нашей работы заключается в изучении влияния кормовой добавки Клим, на основные биохимические показатели крови печени крыс при моделировании токсического гепатита токсическим веществом – тетрахлорметаном. Поиск и разработка новых гепатопротекторов является одной из важнейших задач в области фармакологии.

В работе показано, что применение пищевой добавки клим при остром токсическом отравлении способствует улучшению основных биохимических показателей крови при моделировании острого токсического гепатита у крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В качестве моделей для исследования были выбраны 30 лабораторных крыс породы Wistar, разделенные на 3 группы, опытную, контрольную и интактную по 10 голов по принципу аналогов. Исследование проводилось на кафедре патологической физиологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ. Возрастной диапазон крыс составлял 3,5-4 месяца, живая масса составляла 350 – 400 грамм со стандартным содержанием в условиях вивария на обычном пищевом и питьевом режиме. Особям, находящимся в опытной группе (n=10), на фоне моделирования тетрахлорметаном, задавали биодобавку Клим в

дозировке 1 гр на 5 килограмм корма на основе янтарной и малоновой кислот, животные контрольной группы (n=10) подверглись только моделированию гепатопатии тетрахлорметаном, животные интактной группы (n=10) не подвергались воздействию препаратов. Кормовая добавка Клим содержит органические кислоты – янтарную и малоновую. Янтарная кислота (сукцинат), являясь промежуточным продуктом цикла трикарбоновых кислот, в условиях нарушенного клеточного дыхания (гипоксия, токсическое поражение митохондрий), экзогенный сукцинат может частично поддержать цикл трикарбоновых кислот и митохондриальную продукцию АТФ, улучшая энергетический статус клеток, таким образом улучшает энергообмен, уменьшает клеточную некроз и облегчает восстановление функции. Применение малоновой кислоты, как ингибитора сукцинатдегидрогеназы, уменьшает всплеск образования реактивных форм кислорода.

В ходе моделирования гепатопатии животным опытной и контрольной групп инсулиновым шприцом вводили перорально тетрахлорметан в 50 % растворе на оливковом масле в дозе 1 мл/кг массы животного. Контроль оценки развития острого токсического гепатита проводили на 3, 5 и 7 сутки, для чего проводили отбор проб крови из хвостовой вены для биохимических и гематологических исследований с последующим выведением животных из опыта. Все исследования проводились в соответствии с Европейской конвенцией о защите прав позвоночных животных от 1986г. Биохимический анализ крови был выполнен на биохимическом полуавтоматическом анализаторе «CLIMA MC - 15». Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel MO, а также компьютерной программы Statistika 2.0, достоверность различий определяли с помощью непараметрического статистического критерия Вилкоксона (W.t).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В ходе исследования были зарегистрированы изменения биохимических параметров сыворотки крови. Развитие острого токсического гепатита наступало на 3-5 сутки с сопутствующей клинической картиной. Животные были апатичны, отмечалась гипорексия, полидипсия, взъерошенная шерсть, тяжелое дыхание.

По результатам исследования наблюдалось изменение активности основных печеночных маркеров у крыс опытной и контрольной группы (таблица 1). Так, на 3, 5 и 7 сутки у контрольных крыс было выявлено достоверное повышение аланинаминотрансферазы (АлАТ) на 25%, 9% и 7% соответственно, в опытной группе активность этого фермента была повышена только на 3й и 5й день на 35% и 10% соответственно, а уже к 7му дню не имела достоверных отличий от показателей интактных животных и нормативных значений.

Активность аспартатаминотрансферазы (АсАТ) у животных контрольной группы была достоверно выше аналогичного показателя у интактных животных на 5й день на 52% и на 7й день на 29%, у крыс же опытной группы активность АсАТ была повышена только на 3й день исследования, а уже к 7му дню приблизилась к значениям интактных животных.

Щелочная фосфатаза крыс контрольной группы достоверно повышала активность на протяжении всего исследования, на 3й день на 12%, на 5 день на 11% и на 7й день на 28% (по сравнению с интактной группой), у опытной группы активность щелочной фосфатазы была повышена только на 3й день на 10%, а к 5му дню уже не имела достоверных отличий от показателей интактной группы.

Результаты нашего исследования подтверждают, что острый токсический гепатит у крыс развивается с четкими биохимическими изменениями в сыворотке крови, проявляющимися на 3-5 сутки. У контрольной группы животных наблюдались значительные отклонения в активности печеночных маркеров, что указывает на повреждение гепатоцитов. В то же время, животные опытной группы продемонстрировали более быструю нормали-

зацию уровней аминотрансфераз и щелочной фосфатазы, что может свидетельствовать о положительном влиянии исследуемой биодобавки на печеночную функцию и общее состояние организма. Эти данные подчеркивают важность изучения и применения оптимизированных методов терапии для предотвращения и лечения токсических поражений печени, а также открывают новые перспективы для дальнейших исследований в области защиты печени от токсических воздействий.

Таким образом, в двух исследуемых группах было отмечено резкое изменение основных печеночных показателей крови, однако в опытной группе, которая подверглась не только моделированию тетрахлорметаном, но и которая получала биологическую добавку Клим, показатели крови значительно были ниже, нежели у животных контрольной группы, где проводилось только моделирование острого токсического гепатита. Такой результат исследования может быть связан с появлением колликвационого некроза, а также белковой и жировой дистрофией гепатоцитов центральной зоны печеночной дольки, при применении гепатотоксического агента без применения биологической добавки.

Таблица 1 – Изменение основных биохимических показателей печени у крыс опытной и контрольной групп (M±m)

		АлАТ МЕ\л	АсАТ МЕ\л	ЩФ МЕ\л
Референсные значения		34-76	60-223	61-287
Интактная группа		123,9±14,98	149,8±12,51	391,97±39,96
Опытная группа	3 сутки	168,5±0,72*	166,94±10,59	431,3±21,96*
Контрольная группа		154,4 ±9,8*	140,97 ±10,12	441,8 ±21,93*
Опытная группа	5 сутки	136,68±1,04**	203,04±8,78**	377±19,71
Контрольная группа		135,35 ± 2,4**	228,1 ± 28,76**	434,98±42,95**
Опытная группа	7 сутки	124,26±4,64	168,16±17,37	420,93±9,25
Контрольная группа		133,13±14,72***	192,8 ± 26,79***	502,05±24,61***

*Примечание: * где, $p \leq 0,05$ по к интактной на 3 сутки, ** где, $p \leq 0,05$ по отношению опытной и контрольной группе к интактной на 5 сутки, *** где, $p \leq 0,05$ по отношению опытной и контрольной группе к интактной на 7 сутки.*

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Тетрахлорметан без применения терапии вызывает значительное нарушение функционирования печени, о чем свидетельствует повышение уровня печеночных показателей, что свидетельствует о появлении острого воспалительного процесса в гепатобилиарной системе.

Тогда как, применение биологической добавки на основе янтарной и малоновой кислот, оказывает положительное действие на функционирование печени при экспериментальном моделировании острого токсического гепатита.

METABOLIC ROLE OF ORGANIC-MINERAL ADDITIVE KLIM IN EXPERIMENTAL LIVER INJURY IN RATS

Anisimova K.A.* – Candidate of Veterinary Sciences, Assoc. Prof., Department of Pathological Physiology, (ORCID 0000-0001-7966-9687); **Lukoyanova L.A.** – Candidate of Veterinary Sciences, Assoc. Prof., Assoc. Prof. of the Department of Pathological Physiology (ORCID 0000-0003-4785-9632)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

**k.lysova2012@yandex.ru*

ABSTRACT

The use of feed additives in veterinary medicine has recently become increasingly important due to the need to reduce the impact of negative environmental factors or factors arising from improper animal husbandry practices. They contribute to the improvement of the overall health of animals, and their use also reduces treatment costs and increases farm profitability. The aim of this study was to investigate the effect of the feed additive Klim on key biochemical parameters of rat liver blood during a model of acute toxic hepatitis with the toxic substance carbon tetrachloride (CCl4). The discovery and development of new hepatoprotectors is one of the most important tasks in the field of pharmacology. The pathogenesis of liver damage includes oxidative stress, inflammatory processes, apoptosis or necrosis, mitochondrial dysfunction, cholestasis, activation of hepatic stellate cells, and fibrosis. This provides ample scope for the development of hepatoprotectors targeting specific molecular pathways (antioxidants, anti-inflammatory agents, antifibrotics, metabolic modifiers, etc.). The need to search for and develop new hepatoprotectors for animals is justified by the high prevalence of liver problems in various species, significant economic losses in livestock farming, risks to food security, the limitations of existing, often poorly proven, treatments, species-specific metabolism and drug response, and the importance of improving animal welfare. The development of safe, effective, and tailored hepatoprotectors will strengthen veterinary practice, reduce costs, and improve the quality of animal products. The study demonstrated that the use of the dietary supplement Klim in acute toxic poisoning contributes to improvements in key blood biochemical parameters in a model of acute toxic hepatitis in rats.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Анисимова, К. А. Опыт моделирования острого токсического гепатита у крыс / К. А. Анисимова // Молодые ученые в формировании приоритетов научно-технологического развития страны в условиях современных вызовов: материалы международной научно-практической конференции, Санкт-Петербург, 23 июня 2023 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2023. – С. 18-20. – EDN HFCEBA.

2. 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.

3. Крячко, О. В. Изменение активности аминотрансфераз сыворотки крови крыс при моделировании острого токсического гепатита / О. В. Крячко, Л. А. Лукоянова, К. А. Анисимова // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2023. – № 4. – С. 194-197. – DOI 10.52419/issn2782-6252.2023.4.194. – EDN KPAMEQ.

4. Лукоянова, Л. А. Моделирование гепатита с выраженным интоксикационным синдром у собак / Л. А. Лукоянова, О. В. Крячко // Материалы международной научной конференции по патофизиологии животных, посвященной 200-летию ветеринарного образования в России и 200-летию СПбГАВМ, Санкт-Петербург, 05–06 июня 2008 года / Под редакцией С. И. Лютинского, О. В. Крячко; Министерство сельского хозяйства РФ, Департамент

научно-технологической политики и образования, Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, Ассоциация патофизиологов ветеринарной медицины РАМН. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2008. – С. 48-49. – EDN VIHGGB.

5. Патология печени домашних животных / составители: Крячко О. В., Савичева С. В., Племяшов К.В, Романова О. В.; Министерство Сельского Хозяйства Российской федерации, Департамент Научно -Технологической политики и образования, Санкт-Петербургская Государственная Академия Ветеринарной Медицины. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2011. – 43 с.

6. Понамарев, В. С. Особенности экспериментального моделирования ферроптоза гепатоцитов / В. С. Понамарев // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2022. – № 1. – С. 102-104. – DOI 10.52419/issn2782-6252.2022.1.102.

7. Чернов В.Н., Еникеев Д.А., Мышкин В.А. Влияние тетрахлорметана, мексидола и соединения оксиметилурацила с янтарной кислотой на устойчивость взрослых и старых крыс к гипоксической гипоксии / Family Health in the XXI century. Oncology–XXI century (Materials of XI International Scientific Oncological Conference. 24.04-02.05.2007) Netherlands – Germany–France–Пермь: Изд-во «ПОНИЦАА», 2007. СС. 293–294.

8. Шафигуллина, З. А. Характеристика регенерации печени при диффузном токсическом повреждении и его коррекция: специальность 14.03.03 "Патологическая физиология»: диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Шафигуллина Злата Александровна. – Екатеринбург, 2021. – 151 с. – EDN BQPXKO.

9. The Effect of the Klim Feed Additive on Cortisol Levels in Cows During Stress / E. Aleksandrova, L. Lukoyanova, O. Kriyachko [et al.] // FASEB Journal. – 2022. – Vol. 36, No. S1. – P. 3351. – DOI 10.1096/fasebj.2022.36.S1.R3351. – EDN BACIAL.

10. Berkson, B.M. A conservative triple antioxidant approach to the treatment of hepatitis C. Combination of alpha lipoic acid (thioctic acid), silymarin, and selenium: three case histories. / B.M. Berkson // Med Klin (Munich). –1999. – Vol.94, No3. – P.84 -89

11. Carrion J.A. Evaluation de la fibrosis asociada a la enfennedad hepatica, XXXVII congresoanual dela asociacionespanola para el estudio del higado [Text] / J.A.Carrion // Gastroenterol. Hepatol. - 2012.-Vol. 3 5, - P. 38 -45.

12. Ideal hepatotoxicity model in rats using carbon tetrachloride (CCL4) / A.J. Alhassan, M.S. Sule, S.A. Aliyu, [et al.] // Bayero Journal of Pure and Applied Sciences. – 2009. – Vol. 2 (2). – P. 185–187. doi:10.4314/bajopas. v2i2.63809.

13. Pathological physiology of animals. General nosology: manual / O. V. Kryachko, L. A. Lukoyanova, V. N. Gaponova [et al.]. – Saint Petersburg: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2023. – 87 p. – EDN XCAHFP.

14. Fiziopatologie: Tulburări Funcționale și Mecanisme Etiopatogence / O. V. Kryachko. – Cluj-Napoca: Risoprint, 2017. – 1000 p. – ISBN 978-973-53-1718-8. – EDN YWUXGW

REFERENCES

1. Anisimova, K. A. Experience in modeling acute toxic hepatitis in rats / K. A. Anisimova // Young scientists in shaping the priorities of the country's scientific and technological development in the context of modern challenges: materials of the international scientific and practical conference, St. Petersburg, 23 June 2023. – St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2023. – P. 18-20. – EDN HFCEBA.

2. Biochemistry of the liver and laboratory assessment of its physiological and biochemical state: a teaching aid / O. S. Belonovskaya, A. A. Lisitsyna, L. Yu. Karpenko, A. A. Bakhta. - St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2014. - 116 p. - EDN VNEEQL.

3. Kryachko, O. V. Changes in the activity

of aminotransferases in rat blood serum during modeling of acute toxic hepatitis / O. V. Kryachko, L. A. Lukoyanova, K. A. Anisimov // Normative and legal regulation in veterinary medicine. - 2023. - No. 4. - P. 194 -197. - DOI 10.52419/issn2782-6252.2023.4.194. – EDN KPAMEQ.

4. Lukoyanova, L. A. Modeling of hepatitis with severe intoxication syndrome in dogs / L. A. Lukoyanova, O. V. Kryachko // Proceedings of the international scientific conference on animal pathophysiology dedicated to the 200th anniversary of veterinary education in Russia and the 200th anniversary of the St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, St. Petersburg, June 5–6, 2008 / Edited by S. I. Lyutinsky, O. V. Kryachko; Ministry of Agriculture of the Russian Federation, Department of Scientific and Technological Policy and Education, St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, Association of Veterinary Pathophysiologists of the Russian Academy of Medical Sciences. – St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2008. – P. 48–49. – EDN VIHGGB.

5. Liver pathology of domestic animals / authors: Kryachko O. V., Savicheva S. V., Plemyashov K. V., Romanova O. V.; Ministry of Agriculture of the Russian Federation, Department of Scientific and Technological Policy and Education, St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine. - St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2011. - 43 p.

6. Ponomarev, V. S. Features of experimental modeling of hepatocyte ferroptosis / V. S. Ponomarev // Normative and legal regulation in veterinary medicine. - 2022. - No. 1. - P. 102-104. - DOI 10.52419/issn2782-6252.2022.1.102.

7. Chernov V.N., Enikeev D.A., Myshkin V.A. Effect of tetrachloromethane, mexidol and oxymethyluracil compound with succinic acid on resistance of adult and old rats to hypoxic hypoxia / Family Health in the XXI century. Oncology–XXI century (Materials of XI International Scientific Oncological Conference. 24.04-02.05.2007) Netherlands –Germany–France–Perm: Publishing house “PONITSAA”, 2007. pp. 293–294.

8. Shafigullina, Z. A. Characteristics of liver regeneration in diffuse toxic damage and its correction: specialty 14.03.03 "Pathological physiology": dissertation for the degree of candidate of biological sciences / Shafigullina Zlata Aleksandrovna. - Ekaterinburg, 2021. - 151 p. - EDN BQPXKO.

9. The Effect of the Klim Feed Additive on Cortisol Levels in Cows During Stress / E. Aleksandrova, L. Lukoyanova, O. Kriyachko [et al.] // FASEB Journal. – 2022. – Vol. 36, No. S1. – P. 3351. – DOI 10.1096/fasebj.2022.36.S1.R3351. – EDN BACIAL.

10. Berkson, B. M. A conservative triple antioxidant approach to the treatment of hepatitis C. Combination of alpha lipoic acid (thioctic acid), silymarin, and selenium: three case histories. / B. M. Berkson // Med Klin (Munich). -1999. - Vol. 94, No. 3. - P. 84-89

11. Carrion J. A. Evaluation of fibrosis asociada a la enfennedad hepatica, XXXVII congresoanual dela asociacionespanola para el estudio del higado [Text] / J.A. Carrion // Gastroenterol. Hepatol. - 2012.-Vol. 3 5, - P. 38 -45.

12. Ideal hepatotoxicity model in rats using carbon tetrachloride (CCL4) / A.J. Alhassan, M.S. Sule, S.A. Aliyu, [et al.] // Bayero Journal of Pure and Applied Sciences. - 2009. - Vol. 2 (2). - P. 185-187. doi:10.4314/bajopas. v2i2.63809.

13. Pathological physiology of animals. General nosology: manual / O. V. Kryachko, L. A. Lukoyanova, V. N. Gaponova [et al.]. - Saint Petersburg: Saint Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2023. - 87 p. - EDN XCAHFP.

14. Fiziopatologie: Tulburări Funcționale și Mecanisme Etiopatogence / O. V. Kryachko. – Cluj-Napoca: Risoprint, 2017. – 1000 p. – ISBN 978-973-53-1718-8. –EDN YWU-XGW

УДК: 636.2+637.046
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.347

ЗАВИСИМОСТЬ АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА И ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА МОЛОКА ОТ СТЕПЕНИ МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ КОРОВ ГОЛШТИНСКОЙ ПОРОДЫ

Колесник Н.С. – мл. науч. сотр., лаборатории фундаментальных основ питания сельскохозяйственных животных и рыб (ORCID 0000-0002-4267-5300); **Зайцев С.Ю.**[*] – д-р биол. наук, д-р хим. наук, рук. группы аналитической биохимии (ORCID 0000-0003-1533-8680); **Воронина О.А.** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. группы аналитической биохимии (ORCID 0000-0002-6774-4288); **Савина А.А.** – науч. сотр., группы аналитической биохимии (ORCID 0000-0003-0257-1643)

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»

[*] s.y.zaitsev@mail.ru

Ключевые слова: *качество молока, аминокислоты, коровы голштинской породы, продуктивность.*

Key words: *milk quality, amino acids, Holstein cows, productivity.*

Финансирование: *Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках выполнения государственного задания (регистрационный номер ЕГИСУ темы НИР FGGN-2024-0016).*

Поступила: 03.08.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Коровье молоко, как базовый продукт питания, занимает ведущее место в молочном скотоводстве. Его высокая пищевая ценность определяется сложным химическим составом. Это относится, прежде всего, к жирам, белкам, углеводам, микроэлементам и другим компонентам молока. В своей работе мы уделили внимание вопросу аминокислотного состава белков молока, поскольку он имеет важнейшее значение для физиологии потребителя. В метаболических процессах на уровне клеточного метаболизма именно аминокислоты выступают в качестве основных субстратов, участвующих в процессах: регуляции биосинтеза белка, энергетического обмена клетки и других. Цель работы – выявить взаимосвязь между рядом биохимических показателей молока и аминокислотным профилем в зависимости от уровня молочной продуктивности коров голштинской породы. Исследования проводились в лабораториях ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, материал для исследования был получен на племзаводе «Ладожское». Методы, использованные в работе: амперометрическое детектирование, ионообменная хроматография с постколоночной дериватизацией, Фурье-анализ в инфракрасном диапазоне. Оборудование для анализа: «ЦветЯуза-01-АА» («Химавтоматика», Россия), LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) с реакционным модулем для постколоночной дериватизации ARM-1000 (Sevko&Co, Россия), «Combi Foss 7» (Дания). Выделены три группы коров с увеличивающейся молочной продуктив-

ностью: 1) 15-25 л, 2) 26-35 л, 3) 36-45 л в сутки. В результате работы установлено, что увеличение соотношения незаменимых и синтезируемых аминокислот от группы 1 к группе 3 свидетельствует о пропорциональном увеличении ценности белка в молоке высокопродуктивных коров. Результаты корреляционного анализа показывают устойчивые, и что важно, однонаправленные корреляционные связи между аминокислотами и биохимическими показателями молока коров всех трех групп.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Коровье молоко является доминирующим продуктом в мировом молочном производстве и наиболее широко потребляемым видом молока, чья высокая питательная ценность определяется сложным химическим составом [1]. Молоко классифицируется как полидисперсная система, содержащая разнообразные компоненты, включая липиды, белки, углеводы и минералы. Среди этих компонентов особое значение имеют белки, представленные казеинами и сывороточными белками (альбуминами и глобулинами), которые служат основным источником аминокислот. Аминокислоты играют критически важную роль в физиологических процессах организма, выступая в качестве субстратов и регуляторов биосинтеза белка, участвуя в энергетическом метаболизме, являясь предшественниками физиологически активных аминов, нуклеиновых кислот, липидов и гормонов [2]. Согласно литературным данным, содержание белков в 100 г коровьего молока составляет 3,1–4,0 г белков, из них от 75 до 87% приходится на казеин, 10–12% – на альбумин и 3–6% – на глобулин, а их общий аминокислотный состав во многом зависит от породных особенностей, условий содержания, сезона, периода лактации и режима кормления [3,4].

Основываясь на процессах биосинтеза белка или азотном балансе, аминокислоты обычно классифицируются как «незаменимые» или «заменимые» для животных и людей [5]. Однако литература последних лет свидетельствует о том, что некоторые из заменимых АК играют важную роль в множественных сигнальных путях, регулируя тем самым экспрессию генов, внутриклеточный обмен белков, метаболизм питательных веществ и окислительную защиту [6,7]. Так, глутаминовая кислота является единственной кислотой, поддерживающей дыхание клеток мозга [8]. В связи с этим была разработана концепция функциональных аминокислот, включающая как заменимые, так и незаменимые АК: аргинин, цистеин, глутамин, лейцин, пролин и триптофан. Дефицит функциональных АК нарушает не только синтез белка, но и гомеостаз всего организма.

Молочные белки содержат в своем составе все необходимые для человека аминокислоты, а по сбалансированности своих аминокислот позволяют значительно улучшать общую сбалансированность аминокислот белков всего пищевого рациона [9].

Доля белка наряду с долей жира, кислотностью, числом соматических клеток является важным показателем качества молока. В связи с этим фундаментальный интерес представляет взаимное влияние составных компонентов молока друг на друга и на конечный биохимический профиль молока [10,11], который и определяет, в конечном счете, качество продукта. К примеру, присутствие в молочном жире полиненасыщенных жирных кислот приводит к быстрому окислению их кислородом воздуха [12]. Первичные продукты перекисного окисления жирных кислот быстро превращаются в различные вторичные продукты окисления, в том числе, пероксиды, альдегиды, кетоны, оксикислоты, которые не только изменяют вкус, запах и цвет молока, но и, некоторые из них являются токсичными веществами [13]. Многофакторная система антиоксидантной защиты, включающая в себя жиро- и водорастворимые витамины, флавоноиды, белки, пептиды, а также ферментативный комплекс антиокислительных ферментов [14] в некоторой степени компенсирует и нейтрализует вторичные ме-

таболиты перекисного окисления жирных кислот молока, однако естественным образом это сказывается на качестве молока.

Таким образом, целью работы является выявление связи между рядом биохимических показателей молока и аминокислотным профилем в зависимости от уровня молочной продуктивности коров голштинской породы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования были проведены с образцами от племенного хозяйства «Ладожское» и в лабораториях ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста. Протокол исследования на животных был одобрен биоэтической комиссией ФГБНУ ФИЦ ВИЖ имени Л.К. Эрнста (протокол № 2, от 20 марта 2023 года). Были получены и исследованы основные биохимические показатели и общий аминокислотный состав молока от 74 голов коров голштинской породы в племенном заводе Ладожский. Для всех групп исследовали коров 1 -2 лактации (вторая фаза лактации). В первую группу вошли животные со средним суточным удоем 15-25 литров, во вторую - 26-35 литров в сутки и в третью с удоем - 36-45 литров в сутки. В первую группу вошло 28% (n=21) исследуемого поголовья, во вторую 41% (n=30) и в третью 31% (n=23).

Кормление коров осуществлялось согласно общепринятым нормам и по утвержденному в хозяйстве рациону из расчета на голову: концентрированных кормов 12,0 кг, сенаж 14,0 кг, силос 8,0 кг, сено 3,0 кг. От начала лактации и к её завершению в структуре рациона менялась пропорция и соотношение («%» от питательности), что приходится на долю каждого вида кормов. Таким образом, доля концентратов постепенно снижалась с 45% в начале до 24% к концу лактации, вместе с параллельным повышением доли силоса, сенажа и сена в рационе.

Суммарное содержание водорастворимых антиоксидантов (СКВА) – амперометрический метод с помощью прибора «ЦветЯуза-01-АА» с амперометрическим детектором («Химавтоматика», Россия) методика работы подробно описана в наших предыдущих публикациях [15]. Аминокислотный профиль молока изучали методом ионообменной хроматографии с постколоночной дериватизацией проб нингидрином с помощью системы высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония), оснащенной реакционным модулем для пост-колоночной дериватизации нингидрином APM-1000 (Sevko&Co, Россия) и колонкой с ионообменной смолой (Sevko&Co, Россия). Подготовка проб для анализа осуществлялась в соответствии с ГОСТ 32195-2013. Гидролиз выполняли в фторопластовых стаканах с завинчивающейся крышкой (CEM, США), в термостате при 110 °C в течение 24 часов. В условиях кислого гидролиза полностью разрушаются аминокислоты триптофан (Trp), метионин (Met) и цистеин (Cys). Asn и Gln являются амидами аспартата и глутамата и в условиях гидролиза переходят в соответствующие кислоты и на хроматограмме определяются вместе с Asp и Glu.

Во время контрольной дойки отбирали среднюю пробу молока согласно ГОСТ 26809.1-2014, проводили учет суточного удоя. Анализ проб молока выполнен в лабораториях ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста. Компонентный состав молока определяли на приборе «Combi Foss 7» (Дания); изучаемые показатели: массовая доля жира (МДЖ), массовая доля белка истинного (МДБи), массовая доля белка общего (МДБо), лактоза, сухой обезжиренный молочный остаток (СОМО), сухое вещество (СВ), температура замерзания (ТЗ), pH – показатель кислотности.

Все полученные в опыте результаты обработаны биометрически с вычислением следующих величин: среднеарифметическая ошибка (M±m), среднеквадратическая ошибка (MES) и уровень значимости (p). Результаты исследований считали: высокодостоверными при $p<0,001$ и достоверными при $p<0,01$ и $p<0,05$; при $0,05<p<0,1$ – тенденция к достоверности

полученных данных; при $p>0,1$ разница не достоверна.

Количественная оценка взаимосвязи между изучаемыми параметрами выполнена при помощи корреляционного анализа. Оценка по силе связи (величине коэффициента корреляции): $r<0,25$ – слабая связь; $0,25<r<0,50$ – умеренная связь; $0,50<r<0,75$ – сильная связь; $r>0,75$ – очень сильная связь.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты выполненных работ и итоговые данные, полученные в результате анализа представлены в таблицах 1 и 2.

Наименьшее количество аминокислот, как заменимых, так и незаменимых, наблюдается в молоке коров второй группы с удоем 26-35 л. Так, содержание Val было ниже на 13%, Phe – на 16,7%, Lys – на 13,3%, Tyr – на 17,7%, Ile – на 15,8% относительно третьей группы. Аналогично, в первой группе было больше Asp на 11,5%, Ser на 10,5%, Glu на 11,9%, Ala, на 14,3%, Leu на 11,8%, Lys на 10,3% и Pro на 16% по сравнению со второй группой.

Общий аминокислотный профиль молока достаточно стабилен, что подтверждается низкими и умеренными коэффициентами вариации для большинства аминокислот ($C_V < 20\%$). Наибольший разброс данных характерен для пролина и аргинина ($C_V > 20\%$). Как известно, аргинин является формально незаменимой аминокислотой. Поэтому для взрослого организма она может быть использована для синтеза белка в случае её недостатка в кормах рациона. Степень ее «незаменимости» тесно связана как с рационом, так и с возрастом, поскольку уровень синтеза аргинина в организме увеличивается по мере взросления. Несмотря на то, что пролин является заменимой аминокислотой и содержится во всех белках организма, его количество обладает высокой степенью изменчивости. Вероятно, это связано с особенностью его химической структуры. В составе белков атом азота в молекуле пролина не связан с атомом водорода, таким образом, пептидная группировка X-Pro не может быть донором водорода при формировании водородной связи. Обладая конформационно жёсткой структурой, пролин сильно изгибает пептидную цепь. Пролин является «поворотной» аминокислотой и активно участвует в формировании вторичной структуры белка. Таким образом, его содержание сильно зависит от количества, соотношения и конформации белков, с чем и связана высокая вариабельность данного показателя. Разброс данных по содержанию остальных аминокислот обусловлен, в основном, колебаниями в соотношении белковых фракций молока, а также наличием некоторого количества аминокислот в свободной форме.

Стоит отметить линейное увеличение соотношения суммы незаменимых аминокислот к заменимым в молоке с увеличением среднесуточного удоя. Так, в первой группе этот показатель составил 0,90±0,013, во второй – 0,93±0,011, в третьей – 0,96±0,008, что говорит о большей полноценности белка у высокопродуктивных животных. Так, в первой группе относительно третьей было больше заменимых аминокислот – аспарагиновой кислоты и пролина, но меньше незаменимых – валина, изолейцина, лейцина, фенилаланина, лизина, а также условно заменимых гистидина и аргинина.

Антиоксидантная активность молока также была чуть выше у животных группы 3. В свою очередь, количество жира линейно снижалось с увеличением удоев (4,09% – группа 1, 3,40% – группа 2, 2,82% – группа 3). Данные по количеству белка в молоке подопытных животных полностью соотносятся с общим аминокислотным составом. Остальные биохимические показатели во всех группах отличались незначительно.

Далее нами была проведена процедура попарных сравнений групп животных по изучаемым показателям и поиск взаимосвязей между ними (таблица 2).

Таблица 1 – Аминокислотные и биохимические показатели молока коров голштинской породы в зависимости от молочной продуктивности

Показатель	группа 1 (n=21)		группа 2 (n=30)		группа 3 (n=23)	
	M	C_V, %	M	C_V, %	M	C_V, %
ASP	0,26±0,01	18,27	0,23±0,009	22,01	0,25±0,007	13,81
THR	0,12±0,006	20,72	0,11±0,004	21,11	0,12±0,003	12,83
SER	0,19±0,008	18,94	0,17±0,007	21,05	0,19±0,005	13,53
GLU	0,67±0,028	18,82	0,59±0,023	21,23	0,67±0,018	13,11
GLY	0,05±0,002	18,82	0,04±0,002	22,43	0,05±0,001	13,37
ALA	0,14±0,005	16,73	0,12±0,005	20,89	0,14±0,004	12,57
VAL	0,22±0,008	16,79	0,20±0,008	21,45	0,23±0,006	12,66
ILE	0,18±0,007	16,76	0,16±0,007	21,71	0,19±0,004	11,09
LEU	0,34±0,013	17,34	0,30±0,012	21,60	0,35±0,008	11,54
TYR	0,16±0,006	16,50	0,14±0,005	19,90	0,17±0,004	10,78
PHE	0,17±0,006	16,61	0,15±0,006	22,64	0,18±0,004	10,78
HIS	0,09±0,003	15,08	0,08±0,003	18,67	0,10±0,003	12,51
LYS	0,29±0,01	15,98	0,26±0,01	20,61	0,30±0,008	12,27
ARG	0,12±0,005	18,02	0,13±0,011	49,04	0,14±0,004	13,43
PRO	0,25±0,018	32,06	0,21±0,011	28,43	0,22±0,006	12,13
НЗ АК/З АК	0,90±0,013	6,61	0,93±0,011	6,32	0,96±0,008	4,01
СКВА, мг/л	14,09±0,843	27,41	14,54±0,596	22,47	15,01±0,688	21,99
МДЖ	4,09±0,174	19,51	3,40±0,121	19,55	2,82±0,097	16,49
МДБи	3,28±0,098	13,73	2,95±0,079	14,77	3,21±0,056	8,40
МДБо	3,42±0,088	11,76	3,12±0,072	12,73	3,36±0,051	7,34
Лактоза	4,88±0,042	3,93	4,88±0,049	5,52	5,03±0,032	3,01
СОМО	9,14±0,111	5,54	8,77±0,109	6,79	9,20±0,078	4,05
СВ	13,01±0,226	7,95	12,01±0,19	8,67	11,91±0,133	5,35
ТЗ	533,71±2,152	1,85	526,17±3,663	3,81	534,30±1,495	1,34
pH	6,58±0,015	1,02	6,55±0,013	1,07	6,57±0,011	0,83

Примечание: ASP – аспарагиновая кислота, THR – треонин, SER – серин, GLU – глутаминовая кислота, GLY – глицин, ALA – аланин, VAL – валин, ILE – изолейцин, LEU – лейцин, TYR – тирозин, PHE – фенилаланин, HIS – гистидин, LYS – лизин, ARG – аргинин, PRO – пролин, Н_АК/З_АК – соотношение незаменимых аминокислот к заменимым, СКВА – суммарное количество водорастворимых антиоксидантов, МДЖ –массовая доля жира, МДБ – массовая доля белка, СОМО –сухой обезжиренный молочный остаток, СВ – сухое вещество, ТЗ – точка замерзания, pH – кислотность.

Установлены следующие достоверные различия между группами с различной продуктивностью. Для группы с удоем в 15-25л/сут по сравнению с группой 26-35 л/сут по следующим показателям: Asp, Thr, Glu, Gly, Ala, Val, Ile, массовая доля жира, массовая доля белка (общий и истинный), сухое вещество. Для всех перечисленных достоверных изменений первая группа превосходит вторую. Статистически значимая разница по содержанию как заменимых, так и незаменимых аминокислот обусловлена выраженным снижением массовой доли белка в молоке. Однако соотношение суммы незаменимых аминокислот к заменимым во второй группе ближе к эквимолярному относительно первой, что говорит о более высокой биологической ценности белка.

Таблица 2 – Достоверность, абсолютная и относительная разница между группами по удою

Группы	1 и 2	1 и 3	2 и 3	1 и 2	1 и 3	2 и 3	1 и 2	1 и 3	2 и 3
Разница	Абсолютная разница			Относительная разница, %			р-достоверность		
ASP	**0,03**	0,01	0,02	**11,54**	3,85	8,00	**0,03**	0,50	0,08
THR	**0,01**	0,00	**0,01**	8,33	0,00	**8,33**	**0,02**	0,86	**0,00**
SER	0,02	0,00	0,02	10,53	0,00	10,53	0,07	0,87	0,06
GLU	**0,08**	0,00	**0,08**	**11,94**	0,00	**11,94**	**0,03**	0,99	**0,02**
GLY	**0,01**	0,00	**0,01**	**20,00**	0,00	**20,00**	**0,01**	0,57	**0,02**
ALA	**0,02**	0,00	**0,02**	**14,29**	0,00	**14,29**	**0,03**	0,48	**0,00**
VAL	**0,02**	0,01	**0,03**	**9,09**	4,55	**13,04**	**0,05**	0,47	**0,01**
ILE	**0,02**	0,01	**0,03**	**11,11**	5,56	**15,79**	**0,04**	0,37	**0,00**
LEU	0,04	0,01	**0,05**	11,76	2,94	**14,29**	0,07	0,38	**0,01**
TYR	0,02	0,01	**0,03**	12,50	6,25	**17,65**	0,06	0,12	**0,00**
PHE	0,02	0,01	**0,03**	11,76	5,88	**16,67**	0,09	0,08	**0,00**
HIS	0,01	**0,01**	**0,02**	11,11	**11,11**	**20,00**	0,65	**0,01**	**0,00**
LYS	0,03	0,01	**0,04**	10,34	3,45	**13,33**	0,16	0,12	**0,00**
ARG	0,01	**0,02**	0,01	8,33	**16,67**	7,14	0,68	**0,02**	0,54
PRO	0,04	0,03	0,01	16,00	12,00	4,55	0,06	0,18	0,34
НЗ АК/З АК	0,03	**0,06**	**0,03**	3,33	**6,67**	**3,12**	0,08	**0,00**	**0,05**
СКВА, мг/л	0,45	0,92	0,47	3,19	6,53	3,13	0,66	0,51	0,77
МДЖ	**0,69**	**1,27**	**0,58**	**16,87**	**31,05**	**20,57**	**0,00**	**0,00**	**0,00**
МДБи	**0,33**	0,07	**0,26**	**10,06**	2,13	**8,10**	**0,01**	0,58	**0,01**
МДБо	**0,30**	0,06	**0,24**	**8,77**	1,75	**7,14**	**0,01**	0,60	**0,01**
Лактоза	0,00	**0,15**	**0,15**	0,00	**3,07**	**2,98**	0,98	**0,01**	**0,02**
СОМО	**0,37**	0,06	**0,43**	**4,05**	0,66	**4,67**	**0,03**	0,57	**0,00**
СВ	**1,00**	**1,10**	0,10	**7,69**	**8,46**	0,84	**0,00**	**0,00**	0,74
ТЗ	7,54	0,59	8,13	1,41	0,11	1,52	0,12	0,82	0,08
pH	0,03	0,01	0,02	0,46	0,15	0,30	0,14	0,42	0,42

Примечание: ASP – аспарагиновая кислота, THR – треонин, SER – серин, GLU – глутаминовая кислота, GLY – глицин, ALA – аланин, VAL – валин, ILE – изолейцин, LEU – лейцин, TYR – тирозин, PHE – фенилаланин, HIS – гистидин, LYS – лизин, ARG – аргинин, PRO – пролин, Н_АК/З_АК – соотношение незаменимых аминокислот к заменимым, СКВА – суммарное количество водорастворимых антиоксидантов, МДЖ –массовая доля жира, МДБ – массовая доля белка, СОМО –сухой обезжиренный молочный остаток, СВ –сухое вещество, ТЗ – точка замерзания, pH –кислотность.

В меньшей степени достоверные различия выражены для первой группы относительно третей (с удоем 36-45 л/сут). По показателям аминокислот в третьей группе достоверно больше His 11,1% (0,01, p=0,01) и Arg 16,7% (0,02, p=0,02), достоверных различий в содержании белка не установлено, наблюдается большее содержание лактозы на 3,1% (0,15%, p=0,01) и меньшая массовая доля жира 31,1% (1,27%, p=0,001), сухого вещества так же достоверно меньше в третьей группе 8,5% (1,10%, p=0,001).

Больше всего достоверных различий ($p<0,05$) установлено для группы 2 (удой 26-35 л/сут) и 3 (удой 36-45 л/сут). Установлены достоверные различия для одиннадцати аминокислот: Thr, Glu, Gly, Ala, Val, Ile, Leu, Tyr, Phe, His, Lys – их большее количество отмечено в третьей группе. Как было сказано выше, аминокислотный профиль молока напрямую связан с количеством белка и соотношением бел-

ковых фракций. Выраженное увеличение массовой доли белка в третьей группе закономерно отразилось и в увеличении содержания ряда аминокислот. Более того, согласно полученным результатам, соотношение незаменимых аминокислот к заменимым в этой группе наиболее приближено к единице, что говорит о высоком качестве молока высокоудойных коров.

Массовая доля жира линейно и достоверно снижалась по мере увеличения удоя. Количество белка также снижалось, с минимумом во второй группе. Как известно, массовая доля жира и белка с увеличением удоев обычно снижается, что связывают с истощением энергетических ресурсов организма животного. Однако наши исследования показывают, что связь между уровнем удоя и массовых долей жира и белка не имеет четкой закономерности, что соотносится с данными других исследователей [16].

Колебания значений антиоксидантной активности при их интегральной оценке по показателю суммарного количества водорастворимых антиоксидантов (СКВА) отличаются в группах на 3,13-6,53%. При этом есть динамика к увеличению показателя СКВА с увеличением удоя.

Для всех изучаемых групп наблюдаются устойчивые положительные взаимосвязи между массовой долей белка и всеми аминокислотами, что, безусловно, является положительным и достоверным результатом в силу роли последних в синтезе белковых молекул. Наибольшие коэффициенты корреляции по данному показателю наблюдаются во 2 группе (от 0,59 до 0,77). В 1 группе диапазон составил от 0,52 до 0,67, а в 3 – от 0,32 до 0,54.

Для первой и второй групп также наблюдаются положительные взаимосвязи между аминокислотным составом и сухим веществом, а также сухим молочным остатком. По данным показателям r находится в пределах от 0,37 до 0,68, однако для третьей группы по данным показателям чёткой взаимосвязи не обнаружено.

Для лактозы в 3 группе наблюдаются устойчивые отрицательные корреляции с большинством аминокислот (r от -0,40 до -0,50). Во второй группе для лактозы все корреляции были близки к нулю, а в 1 группе были слабо отрицательными.

Несомненно, аминокислоты обладают антиоксидантной активностью, однако в изучаемых группах мы обнаружили значимые корреляции со СКВА только для Asp (0,41), Glu (0,40) и Pro (0,53) в 1 группе и для Pro (0,49) во 2 группе. Все остальные корреляции хоть и были положительными, но их сила не велика.

Нами также обнаружены интересные данные по корреляции суточного удоя с аминокислотами. В первой группе наблюдаются умеренные и сильные отрицательные взаимосвязи (от -0,32 до -0,62), во второй и третьей группах корреляции слабые и отрицательные.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Увеличение отношения незаменимых к заменимым аминокислотам (НАК/ЗАК) от группы 1 к группе 3, т.е. приближение его к эквимолярному отношению (1,0) для высокопродуктивных животных (группа 3), свидетельствует о пропорциональном повышении ценности белка в таком молоке.

Общий аминокислотный профиль молока достаточно стабилен, разброс данных для большинства аминокислот не превышает 20%.

Высокие колебания по содержанию пролина обусловлены особенностями его химической структуры и ролью в формировании вторичной структуры белка за счёт изгибания пептидной цепи.

Нами не было обнаружено четкой зависимости между уровнем удоя и оснсовными биохимическими показателями молока.

Обнаружены устойчивые, а что самое главное – однонаправленные корреляции между аминокислотными и биохимическими показателями молока коров во всех изучаемых группах.

DEPENDENCE OF AMINO ACID COMPOSITION AND MILK QUALITY INDICATORS ON MILK PRODUCTIVITY IN HOLSTEIN COWS

Kolesnik N. S. – Junior Researcher in the Laboratory of Fundamental Principles of Nutrition of Farm Animals and Fish (ORCID 0000-0002-4267-5300); **Zaitsev S. Yu.*** – Doctor of Biological Sciences, Doctor of Chemical Sciences, Head of the Analytical Biochemistry Groups (ORCID 0000-0003-1533-8680); **Voronina O. A.** – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher in the Analytical Biochemistry Group (ORCID 0000-0002-6774-4288); **Savina A. A.** – Researcher in the Analytical Biochemistry Group (ORCID 0000-0003-0257-1643).

L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry

* s.y.zaitsev@mail.ru

Financing: *The work was carried out with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of the state assignment (EGISU registration number of the research topic FGGN-2024-0016).*

ABSTRACT

Cow's milk, as a bulk nutritional product, occupies a leading position in the dairy cattle industry. Its high nutritional value is determined by its complex chemical composition. This applies primarily to fats, proteins, carbohydrates, trace elements and other components in milk. In our work, we paid attention to the issue of the amino acid composition of milk proteins, since this is critically important for the physiology of the consumer. Since, in the metabolic processes at the level of cellular metabolism. It is amino acids that act as the major substrates that are involved in the processes of: regulation of protein biosynthesis, energy metabolism of the cell, etc. The purpose of the work is to identify the relationship between a number of biochemical indicators of milk and the amino acid profile depending on the level of milk productivity of Holstein cows. The studies were carried out in the laboratories of the L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, the material for the study was obtained at the "Ladozhskoye" breeding farm. The methods used in the work: amperometric detection, ion-exchange chromatography with post-column derivatization, Fourier transform analysis in the infrared range. Equipment for analysis: "TsvetYauza-01-AA" ("Khimavtomatika", Russia), LC-20 Prominence (Shimadzu, Japan) with a reaction module for post-column derivatization ARM-1000 (Sevko&Co, Russia), "Combi Foss 7" (Denmark). There are three cow groups with increasing milk yield: 1) 15-25 L, 2) 26-35 L, 3) 36-45 L per day. As a result of the work, it was established that the increase in the ratio of essential to synthesizable amino acids from group 1 to group 3 indicates a proportional increase in the value of protein in the milk of high-yielding cows. The results of the correlation analysis show stable, and what is important, unidirectional correlations between amino acids and biochemical parameters of cows' milk for all three groups.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Claeys W. L. et al. Consumption of raw or heated milk from different species: An evaluation of the nutritional and potential health benefits. Food control. 2014;42: 188-201. DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.01.045.
2. Liu Y., Cai J., Zhang F. Functional comparison of breast milk, cow milk and goat milk based on changes in the intestinal flora of mice. LWT. 2021;150:111976. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111976.
3. Рудаков О. Б., Рудакова Л. В. Аминокислотный анализ белков молока. Переработка молока. 2019;12:242. DOI: 10.33465.2222-5455-2019-12-32-35.
4. Вельматов А.П. и др. Аминокислотный состав молока коров – дочерей голштинских быков голландской селекции. Аграрная наука Евро-СевероВостока. 2011;25(6):С. 36–38.
5. Volnin A.A., Sheraliev F.D., Shaposhnikov M.N., Zaitsev S.Y., Bagirov V.A., Zinovieva N.A. Amino acid score of milk proteins of the interspecific hybrids of argali and domestic sheeps. RJOAS. 2017;4:240-

247. DOI: 10.18551/rjoas.2017-04.31.
6. Bruhat A. et al. Amino acids as regulators of gene expression in mammals: Molecular mechanisms. Biofactors. 2009;35:249-257. DOI: 10.1002/biof.40.
7. Brasse-Lagnel C., Lavoinne A., Husson A. Control of mammalian gene expression by amino acids, especially glutamine. FEBS J. 2009;44:276-1826. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2009.06920.x
8. Лысиков Ю. А. Аминокислоты в питании человека. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2012;2:88-105.
9. Мажитова А., Кулмырзаев А. Определение аминокислотного состава коровьего молока методом жидкостной хроматографии с применением предколоночной дериватизации. Журнал технических наук Манас. 2017;5(3):25-34.
10.Каширина Л.Г. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита организма у молочных коров разной продуктивности. Вестник РГАТУ им. П.А. Костычева. 2013;1:8-12.
11.Fox P.F. et al. Heat-induced changes in milk. Dairy Chemistry and Biochemistry. 2015:345-375. DOI: 10.1007/978-3-319-14892-2_9.
12. Vashchenko G., MacGillivray R.T.A. Multi-copper oxidases and human iron metabolism. Nutrients. 2013;5(7):2289-2313. DOI: 10.3390/nu5072289.
13.Добриян Е.И. Антиоксидантная система молока. Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2020;82(2):101-106. DOI: 1Q.2Q914/231Q-12Q2-2Q20-2-1Q1-1Q6.
14.Балакирева Ю.В. и др. Изучение антиоксидантной емкости коровьего и козьего молока. Вестник Казанского технологического университета. 2009;1:56-59.
15.Савина А. А. и др. Амперометрическое детектирование антиоксидантной активности модельных и биологических жидкостей. Вестник Московского университета. Серия 2. Химия. 2020;61(6):429-437.
16.Лефлер Т. Ф., Лесун А. А. Массовая доля белка и жира в молоке коров в зависимости от их удоя. Вестник Красноярского государственного аграрного университета. 2011;(8):175-179.

REFERENCES

1. Claeys W. L. et al. Consumption of raw or heated milk from different species: An evaluation of the nutritional and potential health benefits. Food control. 2014;42: 188-201. DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.01.045.
2. Liu Y., Cai J., Zhang F. Functional comparison of breast milk, cow milk and goat milk based on changes in the intestinal flora of mice. LWT. 2021;150:111976. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111976.
3. Rudakov O. B., Rudakova L. V. Amino acid analysis of milk proteins. Milk processing. 2019;12:242. DOI: 10.33465.2222-5455-2019-12-32-35. (In Russ.).
4. Velmatov A.P. et al. The amino acid composition of milk from cows – daughters of Holstein bulls of Dutch breeding. Agricultural science of the Euro-Northeast. 2011;25 (6): 36-38. (In Russ.).
5. Volnin A.A., Sheraliev F.D., Shaposhnikov M.N., Zaitsev S.Y., Bagirov V.A., Zinovieva N.A. Amino acid score of milk proteins of the interspecific hybrids of argali and domestic sheeps. RJOAS. 2017;4:240-247. DOI: 10.18551/rjoas.2017-04.31.
6. Bruhat A. et al. Amino acids as regulators of gene expression in mammals: Molecular mechanisms. Biofactors. 2009;35:249-257. DOI: 10.1002/biof.40.
7. Brasse-Lagnel C., Lavoinne A., Husson A. Control of mammalian gene expression by amino acids, especially glutamine. FEBS J. 2009;44:276-1826. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2009.06920.x
8. Lysikov Yu. A. Amino acids in human nutrition. Experimental and clinical gastroenterology. 2012;2:88-105. (In Russ.).
9. Mazhitova A, Kulmyrzaev A, Determination of the amino acid composition of cow's milk by liquid chromatography using precolumn derivatization. Journal of technical sciences Manas. 2017;5:25-34. (In Russ.).
10.Kashirina L.G. Lipid peroxidation and antioxidant body protection in dairy cows of different productivity. Bulletin of the P.A. Kostychev Russian State Technical University. 2013;1:8-12. (In Russ.).

11.Fox P.F. et al. Heat-induced changes in milk. Dairy Chemistry and Biochemistry. 2015:345-375. DOI: 10.1007/978-3-319-14892-2_9.

12.Vashchenko G., MacGillivray R.T.A. Multi-copper oxidases and human iron metabolism. Nutrients. 2013;5(7):2289-2313. DOI: 10.3390/nu5072289.

13.Dobriyan E.I. The antioxidant system of milk. Bulletin of the Voronezh State University of Engineering Technologies. 2020;82 (2):101-106. DOI: 1Q.2Q914/231Q-12Q2-2Q20-2-1Q1-1Q6. (In Russ.).

14.Balakireva Yu.V. et al. The study of the antioxidant capacity of cow's and goat's milk. Bulletin of the Kazan Technological University.2009:(1):56-59. (In Russ.).

15.Savina A. A., Voronina O. A., Bogolyubova N. V., Zaytsev S. Yu. Amperometric detection of antioxidant activity of model and biological fluids. Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 2: Khimiya. 2020;61 (6):429-437. (In Russ.).

16.Lefler T. F., Lesun A. A. Mass fraction of protein and fat in cows' milk depending on their milk yield. Bulletin of the Krasnoyarsk State Agrarian University. 2011; (8): 175-179. (In Russ.).

УДК: 619
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.357

ВЛИЯНИЕ ПОЛОВОГО ДИМОРФИЗМА ИНДЕЕК МЯСНЫХ ПОРОД НА РАЗВИТИЕ НЕКОТОРЫХ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ

Краснолобова Е.П*. – канд. ветеринар. наук, доц., доц. каф. морфологии, физиологии и общей патологии (ORCID 0000-0002-2260-5639); **Веремеева С.А.** – канд. ветеринар. наук, доц., доц. каф. морфологии, физиологии и общей патологии (ORCID 0000-0002-3656-6837); **Козлова С. В.** – канд. биол. наук, доц., доц. каф. незаразных болезней сельскохозяйственных животных (ORCID 0000-0002-1431-9720)

ФГБОУ ВО «Государственный аграрный университет Северного Зауралья»

*krasnolobovaep@gausz.ru

Ключевые слова: морфология, индейки, половой диморфизм, желудок, почки, селезенка

Keywords: morphology, turkeys, sexual dimorphism, stomach, kidneys, spleen

Поступила: 18.06.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Дифференциация полов важный аспект адаптивных возможностей организма. Проявление полового диморфизма не однозначно. В этой связи определение влияния его на становление организма птиц, на продуктивные и воспроизводительные качества популяции актуально. Целью работы является изучение влияния полового диморфизма на морфологические особенности роста некоторых внутренних органов у индеек кросса Hybrid Converter Novo. Исследования проведены в 2023-2025 году на базе ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья и ООО «Абсолют-Агро». Объекты исследования почки, селезенка, мышечный и железистый желудки индейки в возрасте 21, 42 и 82 суток кросса Hybrid Converter novo. Вначале проводилась морфометрия органов. Затем проводили гистологические исследования с подсчетом структурных элементов и определение размера морфоструктур. В результате исследования было выявлено, что рост органов различен, относительная масса почек и желудка уменьшается с возрастом, а селезенки увеличивается. Относительная масса у самцов к 82 суткам становится больше, чем у самок - у почек на 0,06%, у селезенки на 0,048%. А относительная масса желудка в возрасте 82 суток больше у самок на 0,54%. При морфометрии гистоструктур органов отмечено, что у самцов к 82 суткам больше, чем у самок мышечная оболочка железистого желудка на 101,71% и мышечного желудка на 12,92%, все элементы селезенки (трабекулы на 34,37%, капсула на 37,57%, площадь фолликул на 20,82%), все элементы почек (площадь суперфициальных телец на 75,54%, интракортикальных телец – на 56,8%, юкстамедуллярных телец – на 67,03%, извитых проксимальных канальцев – на 26,94%, извитых дистальных канальцев – на 22,32%, прямых канальцев - на 22,32%). У самок отмечались большие размеры только в слизистой оболочке железистого желудка на 17,23% и мышечного желудка на 16,78%.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В постнатальном периоде в организме животных и птиц происходят качественные и количественные изменения в соответствии с действием законов непрерывности, неравномерности и корреляции процессов роста и развития.

Согласно закону И.И. Шмальгаузена, линейный и объемный рост всего тела и отдельных его частей не совпадают во времени (фазы деления, пролиферации, митоза клеток и фазы дифференцировки клеток). Периоды ускоренного линейного роста сменяются периодами его замедления и перехода в объемный рост.

Согласно закону аллометрии, отдельные органы и системы растут и развиваются гетерохронно, их окончательное формирование происходит не параллельно. Прослеживается определенная очередность роста и развития органов и систем и становление тех или иных функций [13].

Неравномерность роста и развития организма определяется многими взаимосвязанными между собой факторами. Внутренним, наследственно определяющим регулятором роста и развития организма является не только нервная система, но и эндокринная система, в частности половые железы, которые оказывают значительное влияние на процессы формообразования.

Обусловленность роста и развития полом – одна из важнейших биологических закономерностей. Половые различия в показателях роста и развития генетически запрограммированы, проявляются в особенностях темпов роста и развития отдельных функциональных систем, органов, тканей и организма в целом. Неодинаковая скорость развития характерна для многих функциональных систем, особенно мышечной, респираторной, сердечно-сосудистой, иммунной. Доказаны половые различия в восприимчивости организма к разным факторам среды, и в предрасположенности к тем или иным заболеваниям [15]. В природе гендерные морфологические различия у животных способствуют снижению внутривидовой конкуренции, так как каждый из полов занимает свою экологическую нишу [16].

Детально изучая проявление полового диморфизма животных, Винничук Д.Т., Пабат В.А. и Петренко И.П. предложили его оценивать по разнице скорости роста между самцами и самками в раннем онтогенезе [4, 5, 17].

Патрева Л.С. изучая уровень полового диморфизма у мясных кроссов кур, установила, что выход мясной продукции у бройлеров повышается (20%), если осуществляется подбор кур и петухов из групп с более четко выраженным половым диморфизмом [3,19].

Живая масса суточных самцов и самок домашних птиц имеет видовые различия в половой изменчивости. Суточные самцы мускусной утки имеют максимально большую массу тела в отличие от самок (5,12 %). Меньшую массу тела имеют суточные самцы кряквы (- 3,3 %). Также замечено, что уровень полового диморфизма определяет и показатели яйценоскости [11].

Анализ динамики массы тела и 8 основных линейных параметров тела африканской мускусной утки, показывает доминирование самцов ($p < 0,05$) во всех морфометрических измерениях [21].

Однако по результатам исследования Ojedapo L. O., Amao S. R. японских перепелов самки, в отличие от самцов, имеет большую живую массу тела, большую массу компонентов туши и внутренних органов [20].

Результат ряда исследовательских работ указывают на неравномерность роста и развития индеек и индюков. Если в возрасте до 20 дней самки набирают вес быстрее чем самцы, то к месячному возрасту, индюки начинают интенсивно набирать вес. Также у индюшек продолжительность периода интенсивного роста меньше (13-16 недель), чем у индюков (22-26 недель). И как следствие, разница по живой массе между самцами и самками значительная (в 3-4 раза). Средняя живая масса в возрасте 17 недель составляет у индюков - 16,6 кг, у индеек – 11,5 кг [1,9,10,12].

Анализ результатов исследовательских работ указывает на то, что проявление полового диморфизма не однозначно. В этой связи изучение вопросов полового диморфизма, определение влияния его на становление организма птиц, на продуктивные и воспроизводительные качества популяции актуально.

Целью работы явилось изучить влияние полового диморфизма на морфологические особенности роста некоторых внутренних органов у индеек кросса Hybrid Converter Novo.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проведены в 2023-2025 году на базе кафедре морфологии, физиологии и общей патологии ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья и птицефабрики ООО «Абсолют-Агро» в соответствии с тематикой научных исследований (Рег. №И124011600055-7 код темы 31 соглашение № 075-03-2023-162/1) «Изучение механизмов адаптации и способов повышения продуктивности индеек в условиях Северного Зауралья». Объекты исследования почки, селезенка, мышечный и железистый желудки индейки в возрасте 21, 42 и 82 суток кросса Hybrid Converter novo. Вначале проводилась морфометрия органов. Затем проводили гистологические исследования, которые осуществляли по общепринятым методикам. Гистосрезы окрашивали гематоксилином и эозином [7]. При гистологических исследованиях проводили подсчет структурных элементов и определение размера морфоструктур. Микроскопические исследования осуществляли микроскопом «Micros» при увеличении в 200 раз в 10 полях зрения правильно ориентированных срезов. Полученные данные подвергали математической и биометрической обработке.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Изучая рост массы органов (рис. 1), отмечается, что относительная масса почек и желудка с возрастом уменьшается. Однако у самцов относительная масса почек в возрасте 82 суток больше на 0,06%, чем у самок, а относительная масса желудка в возрасте 82 суток больше у самок на 0,54%. Относительная масса селезенки с возрастом увеличивается и к 82 суткам у самцов становится больше на составляет 0,048%, чем у самок.

Рост массы органов происходит за счет развития структур, при этом может быть два варианта развития – за счет увеличения количества элементов или за счет увеличения размеров.

У индеек имеется два желудка – железистый и мышечный, в которые входят слизистая, мышечная и серозная оболочки.

Возрастная динамика гистоструктур желудка индейки приведена в табл. 1.

При анализе толщины слизистой оболочки железистого желудка по отношению к 21-суточному возрасту отмечалось увеличение к 42-суточному возрасту на 53,84%, к 82-суточному возрасту у самок на 35,70% и у самцов на 12,32%. Толщина мышечной оболочки железистого желудка увеличилась к 42-суточному возрасту на 47,29%, к 82-суточному возрасту у самок на 86,51% и у самцов на 276,22%. Толщина серозной оболочки железистого желудка увеличилась к 42-суточному возрасту на 90,20%, к 82-суточному возрасту у самок на 16,02% и у самцов на 24,01%.

Исследуя мышечный желудок, была следующая картина: толщина кутикулы к 42-суточному возрасту увеличилась на 8,87%, к 82-суточному возрасту у самок на 1,71% и у самцов на 19,19%. Толщина слизистой оболочки к 42-суточному возрасту увеличилась на 53,79%, к 82-суточному возрасту у самок на 51,08% и у самцов на 25,72%. Толщина мышечной оболочки мышечного желудка к 42-суточному возрасту уменьшилась на 0,31%, к 82-суточному возрасту у самок на 0,74% и у самцов на 13,75%. Толщина серозной оболочки железистого желудка к 42-суточному возрасту уменьшилась на 19,96%, к 82-суточному возрасту у самок на 1,45% и у самцов на 16,33%.

Селезенка птиц представляет собой паренхиматозный орган, участвующий в процессах кроветворения, формирования иммунитета. В отличие от селезенки жи-

вотных, не выполняет функцию депо крови. Формирование органа осуществляется в период эмбрионального развития цыпленка. В постнатальный период, в процессе роста цыпленка, прямо пропорционально увеличивается, и масса селезенки [2,6,14].

Однако внешние факторы могут оказывать значительное влияние на абсолютные и относительные размеры селезенки растущих птиц [8,18].

Структура селезенки представлена соединительнотканными элементами (капсула, трабекулы), паренхимой (красная пульпа, белая пульпа) и сосудистой системой. Увеличение размера селезенки сопровождается процессами гистогенеза. В ходе изучения гистоструктуры с учетом возраста и пола установлено, что толщина капсулы у индюшат в возрасте 21 суток составляет 40,16±9,44, в 42 – 38,91±6,87, в 82 у самцов 89,49±17,96, у самок – 65,05±27,51. Толщина трабекул у индюшат в возрасте 21 суток составляет 12,98±5,36 мкм, в 42 – 11,65±4,95 мкм, в 82 у самцов – 98,59±34,01 мкм, у самок – 73,37±22,54 мкм (Рисунок 2).

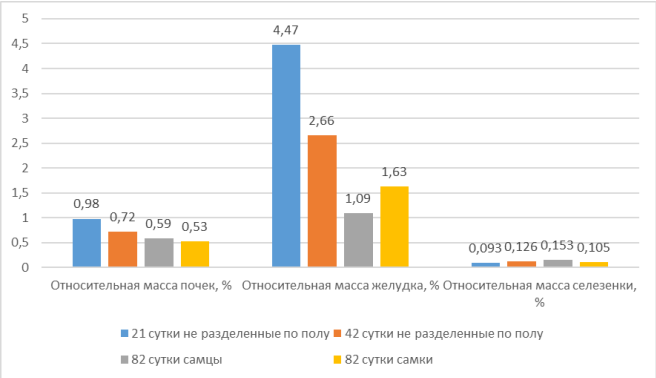


Рисунок 1 – Изменения относительной массы органов индеек кросса Hybrid Converter novo.

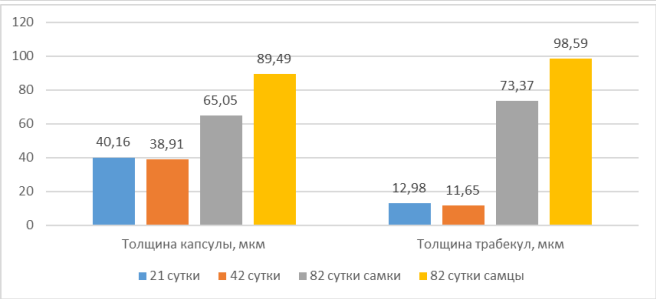


Рисунок 2 – Возрастная динамика структур селезенки индейки.

Паренхима селезенки у индюшат в возрасте от 1 до 14 суток не имеет четкой дифференциации на белую и красную пульпу. Площадь лимфоидных фолликул белой пульпы у птиц в возрасте 21 суток составляет 19868,38±5169,91 мкм^2, в 42 – 18762,14±1159,93 мкм^2, в 82 у самцов - 16436,07±6096,17 мкм^2, у самок – 13604,31±1202,77 мкм^2.

Почки птиц гистологически состоят из нескольких структурных элементов - клубочки и канальца. При этом у формирующихся и развивающихся индюшат происходит активные процессы гисто- и органогенеза. Нефрогенез происходит во всей толще органа, но больше всего в подкапсулярном слое. При изучении роста структурных элементов почек отмечалось, что в почках имеются несколько видов клубочков – суперфициальные, интракортикальные и юкстамедуллярные. Возрастная динамика гистоструктур приведена в табл 2.

Таблица 1 – Морфометрия основных показателей желудка индеек

№ п/п	Показатель	21 сутки, n=5	42 сутки, n=5	82 сутки, n=5	
		не разделённые по полу		самки	самцы
Железистый желудок					
1.	Толщина слизистой оболочки, мкм	1064,29±8,62	1637,28±22,29***	1444,23±9,33***	1195,42±19,32***
2.	Толщина мышечной оболочки, мкм	419,39±11,89	617,7±13,85***	782,22±16,80***	1577,82±16,3***
3.	Толщина серозной оболочки, мкм	27,66±1,56	52,61±4,41***	32,09±1,01*	34,3±2,51*
Мышечный желудок					
4.	Толщина кутикулы, мкм	1126,05±7,47	1225,88±15,93***	1145,29±9,48	1342,1±4,07***
5.	Толщина слизистой оболочки, мкм	431,28±42,60	663,27±9,2***	651,58±12,17***	542,22±4,56*
6.	Толщина мышечной оболочки, мкм	1242,28±5,40	1246,15±4,08***	1251,52±7,43***	1413,2±7,56***
7.	Толщина серозной оболочки, мкм	55,1±0,51	44,1±2,81**	54,3±5,77	46,06±2,09***

*Примечание: здесь и далее *P≥0,95; **P≥0,99; ***P≥0,999, в сравнении к 21 дню.*

При анализе гистоструктур, можно говорить о незначительных изменениях в их размерах в почках. При этом к 42 суткам наблюдается увеличение площади всех почечных телец и площади извитых проксимальных канальцев, а площадь извитых дистальных канальцев и прямых канальцев наоборот немного снижается.

У самцов отмечается увеличение размеров всех элементов по сравнению с 21 суточным возрастом: площадь суперфициальных телец на 82,02%, площадь интракортикальных телец – на 51,8%, площадь юкстамедуллярных телец – на 40,73%, площадь извитых проксимальных канальцев – на 14,29%, площадь извитых дистальных канальцев – на 4,13%, площадь прямых канальцев - на 8,97%.

У самок же отмечается практически во всех структурах уменьшение размеров по сравнению с 21 суточным возрастом: площадь интракортикальных телец – на 3,19%, площадь юкстамедуллярных телец – на 15,75%, площадь извитых проксимальных канальцев – на 9,97%, площадь извитых дистальных канальцев – на 14,87%, площадь прямых канальцев - на 10,92%.

При сопоставлении размеров структур у самок и самцов, отмечалось что все структурные элементы паренхимы у самцов больше: площадь суперфициальных телец на 75,54%, площадь интракортикальных телец – на 56,8%, площадь юк-

стамедуллярных телец – на 67,03%, площадь извитых проксимальных канальцев – на 26,94%, площадь извитых дистальных канальцев – на 22,32%, площадь прямых канальцев - на 22,32%.

Таблица 2 – Морфометрия основных показателей почек индеек

№ п/п	Показатель	21 сутки, n=30	42 сутки, n=30	82 сутки	
		не разделённые по полу		самки, n=20	самцы, n=20
1.	Капсула почек, мкм	7,77±0,38	13,87±0,96***	10,85±0,36***	10,49±0,43***
2.	Площадь почечных телец: суперфициальные, мкм^2	534,36±38,02	620,04±45,04	554,08±17,06	972,65±68,32***
3.	интракортикальные, мкм^2	1188,84±66,39	1351,7±98,78	1150,88±35,98	1804,65± 73,39***
4.	юкстамедуллярные, мкм^2	2044,37±92,25	3429,08± 181,4***	1722,42±82,21*	2877,1± 126,31***
5.	Площадь извитых проксимальных канальцев, мкм^2	672,12±20,86	726,45±35,37	605,14±13,26**	768,15±31,71*
6.	Площадь извитых дистальных канальцев, мкм^2	1183,10±75,6	1153,75±63,96	1007,16±38,99*	1231,92±71,77
7.	Площадь прямых канальцев, мкм^2	3508,79±234,79	3100,4±227,07	3125,71±226,9	3823,51±258,85

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате исследования влияния полового диморфизма на развитие отдельных органов индеек было выявлено следующее:

- рост органов различен, относительная масса одних органов (почек и желудка) уменьшается с возрастом, у других органов (селезенка), наоборот с возрастом происходит увеличение. При этом относительная масса у самцов к 82 суткам становится больше, чем у самок - у почек на 0,06%, у селезенки на 0,048%. А относительная масса желудка в возрасте 82 суток больше у самок на 0,54%.

- возрастная динамика массы желудка сопровождается увеличением толщины слизистой и мышечной оболочек. Толщина слизистой оболочки железистого желудка к 42 суткам увеличилась на 53,84%, а к 82 суткам уменьшилась на 11,78% у самок и на 26,99% самцов по отношению к 42 суточным. Толщина мышечной оболочки железистого желудка увеличивается к 42 суткам на 47,29%, к 82 суткам у самок 26,63%, а у самцов на 155,43% по отношению к 42 суточным. Толщина слизистой оболочки мышечного желудка к 42 суткам увеличилась на 53,79%, а к 82 суткам уменьшилась на 1,76% у самок и на 18,25% самцов по отношению к 42 суточным. Толщина мышечной оболочки мышечного желудка к 42 суткам увеличилась на 0,31%, далее у самок увеличилась на 0,43%, а у самцов на 13,41% по отношению к 42 суточным. У самцов к 82 суткам больше, чем у самок были: мышечная оболочка железистого желудка на 101,71%, мышечная оболочка мышечного желудка на 12,92%. У самок же отмечались большие размеры в слизистой оболочке железистого желудка на 17,23%, слизистой оболочке мышечного желудка на 16,78%.

- возрастная динамика массы селезенки сопровождается увеличением толщины капсулы и трабекул. При этом у индюков в 82 суток капсула и трабекулы толще на 24,44 мкм и на 13,75 мкм соответственно. Площадь лимфатических фолликул в период с 21 по 82 сутки изменяется не равномерно. Установлено, что в пери-

од с 42 по 82 сутки уменьшается объем фолликул на 5,57%. При этом у самок в возрасте 82 суток площадь фолликул меньше, чем у самцов на 20,82%.

- морфометрические особенности гистоструктур почек явно зависят от пола. Все структурные элементы паренхимы у самцов больше: площадь суперфициальных телец на 75,54%, площадь интракортикальных телец – на 56,8%, площадь юкстамедуллярных телец – на 67,03%, площадь извитых проксимальных канальцев – на 26,94%, площадь извитых дистальных канальцев – на 22,32%, площадь прямых канальцев - на 22,32%.

INFLUENCE OF SEXUAL DIMORPHISM OF MEAT BREEDS OF TURKEYS ON THE DEVELOPMENT OF SOME INTERNAL ORGANS

Krasnolobova E.P. – PhD., assoc. department of morphology, physiology and general pathology (ORCID 0000-0002-2260 -5639), **Veremeeva S.A.** – PhD., assoc. department of morphology, physiology and general pathology (ORCID 0000-0002-3656 -6837); **Kozlova S.V.** – PhD. in Biology, assoc. department of non-communicable diseases of farm animals (ORCID 0000-0002-1431-9720).

*krasnolobovaep@gausz.ru

ABSRTACT

Sex differentiation is an important aspect of the adaptive capabilities of the body. The manifestation of sexual dimorphism is not unambiguous. In this regard, determining its influence on the formation of the bird's body, on the productive and reproductive qualities of the population is relevant. The aim of the work is to study the effect of sexual dimorphism on the morphological features of the growth of some internal organs in turkeys of the Hybrid Converter Novo cross. The studies were conducted in 2023-2025 at the Northern Trans-Urals State Agrarian University and Absolut-Agro. The objects of the study are the kidneys, spleen, muscular and glandular stomachs of turkeys aged 21, 42 and 82 days of the Hybrid Converter novo cross. Initially, morphometry of the organs was carried out. Then histological studies were carried out with the calculation of structural elements and determination of the size of morphostructures. As a result of the study, it was revealed that the growth of organs is different, the relative mass of the kidneys and stomach decreases with age, and the spleen increases. The relative mass of males by the age of 82 days becomes greater than that of females - by 0.06% for the kidneys and by 0.048% for the spleen. And the relative mass of the stomach at the age of 82 days is greater in females by 0.54%. Morphometric analysis of the histostructures of organs showed that by the age of 82 days, males had 101.71% more muscular membrane of the glandular stomach and 12.92% more muscular stomach, all elements of the spleen (trabeculae by 34.37%, capsule by 37.57%, follicle area by 20.82%), all elements of the kidneys (area of superficial bodies by 75.54%, intracortical bodies by 56.8%, juxtamedullary bodies by 67.03%, convoluted proximal tubules by 26.94%, convoluted distal tubules by 22.32%, straight tubules by 22.32%) than females. In females, larger sizes were observed only in the mucous membrane of the glandular stomach by 17.23% and the muscular stomach by 16.78%.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Алексеев, Ф.Ф., Продуктивные качества индеек различных линий кросса Хидон при содержании в клетках и на подстилке. / Ф.Ф. Алексеев, С.Ф. Курилкин // Новое в содержании сельскохозяйственной птицы. ВНИТИП. - Загорск. 2001. –С. 45-47.

2. Биологическое развитие кур кросса УК Кубань 7 и реакция селезенки в условиях традиционной иммунопрофилактики / Е.В. Виноградова, В.В. Усенко, И.В. Тарабрин, Я.Н. Деревянко // Труды Кубанского 42 государственного аграрного университета. – 2013. − № 44. – С. 152-155.

3. Бондаренко, Ю. В. Сравнительная характеристика и современная классификация методов определения пола молодняка сельскохозяйственной птицы / Ю. В. Бон-

даренко, Х. А. Омар // Вестник Сумского национального аграрного университета. – 2013. – № 7. – С. 11-120. – EDN QIQOMX
4. Винничук Д.Т. Диморфизм и селекция скота / Д.Т. Винничук. Научные труды УСХА. – Киев. 1974. – Вып. 134. – С. 75–78.
5. Карапуз В.Д. Половой диморфизм и воспроизводительные качества свиней / В.Д. Карапуз. – Херсон, 1996. – 53с.
6. Козлова С.В., Краснолобова Е.П., Веремеева С.А., Череменина Н.А. Морфологические особенности селезенки цыплят-бройлеров при использовании иммуностимулирующих препаратов / С.В. Козлова, Е.П. Краснолобова, С.А. Веремеева, Н.А. Череменина. // Вестник КрасГАУ. 2022. № 9 (186). С. 171-178.
7. Корьяк, В. А. Основы гистологической техники: учебное пособие / В. А. Корьяк, Л. А. Николаева. — Иркутск: ИГМУ, 2020. — 85 с. — Текст: электронный // Лань: электронно-библиотечная система. — URL: https://e.lanbook.com/book/276134 (дата обращения: 15.01.2025). — Режим доступа: для авториз. пользователей.
8. Краснолобова Е.П., Козлова С.В., Веремеева С.А., Бахарев А.А. Анатомо-гистологическая характеристика селезенки бройлеров кросса ARBOR ACRES+ при воздействии стресс-фактора / Е.П. Краснолобова, С.В. Козлова, С.А. Веремеева, А. Бахарев. // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2021. № 2. С. 42-48.
9. Лобанова, А.А. Сравнительная характеристика выращивания индеек кросса «БИГ-6» и «Хайбрид Конвертер» по продуктивным показателям / А.А. Лобанова, О.А. Кортикова // Инновационные идеи молодых исследователей для агропромышленного комплекса России: Сборник статей Всероссийской науч.- практ. конф. молодых ученых. – 2017.
10. Особенности адаптации организма индеек в условиях птицефабрики / С. В. Козлова, С. А. Веремеева, Е. П. Краснолобова [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2023. – № 4. – С. 276-284. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.4.276. – EDN USHSCB.
11. Остапенко, В. И. Половой диморфизм сельскохозяйственной птицы и его влияние на продуктивность / В. И. Остапенко, Ю. В. Бондаренко // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. – 2017. – № 20-1. – С. 77-84. – EDN YNDXDU.
12. 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.
13. Селезнев, С. Б. Использование аллометрии для вычисления абсолютной массы сердца у перепелок / С. Б. Селезнев, Д. А. Гусев, Г. А. Ветошкина // Теоретические и прикладные проблемы агропромышленного комплекса. – 2021. – № 1 (47). – С. 56-59. – DOI 10.32935/2221-7312-2021-47-1-56-59. – EDN QIBBHV.
14. Степанова Е.В. Морфология селезенки кур кросса Хайсекс браун в постнатальном онтогенезе: дис. … канд. ветеринар. нау Финогенова Ю.А. К возрастной морфологии селезенки бройлеров / Ю.А. Финогенова, Е.В. Зайцева, Н.Н. Крикливый. // Экологическая безопасность региона. − Брянск, 2009 − С. 372-375к / Е. В. Степанова. − Брянск, 2006. – 142 с.
15. Федотова, Т. К., Горбачева А. К. Изменчивость полового диморфизма основных антропометрических размеров тела новорожденных в связи со степенью урбанизации // Вестник Московского университета. Серия 23. Антропология. 2021. №2. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/izmenchivost-polovogo-dimorfizma-osnovnyh-antropometricheskih-razmerov-tela-novorozhdennyh-v-svyazi-so-stepenyu-urbanizatsii (дата обращения: 15.02.2025).
16. Цветков Илья Николаевич, Дикарёв Станислав Вячеславович, Кораблёв Николай Павлович, Кораблёв Павел Николаевич Роль полового диморфизма в изменчивости скелета конечностей американской норки (Neovison vison) // Известия

Великолукской государственной сельскохозяйственной академии. 2017. №5. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/rol-polovogo-dimorfizma-v-izmenchivosti-skeleta-konechnostey-amerikanskoy-norki-neovison-vison (дата обращения: 15.02.2025).
17. Чирков Д.И. Подбор родительских пар в связи с половым диморфизмом / И.Д. Чирков //Животноводство. – 1964. – №7. – С. 56-59.
18. Шамаун А. Гистоструктура иммунокомпетентных органов вакцинированной птицы, получавшей «Комбиолакс» и «Сувар» / А. Шамаун // Материалы международ, науч.-произ. конференции по актуал. пробл. агропром. комплекса (ч. 1). – Казань, 2003. – С. 254-255.
19. Шевченко, А. Биологические особенности роста и развития индеек / А. Шевченко // Птицеводство. – 2010. – № 7. – С. 35-37.
20. Ojedapo L. O., Amao S. R. Sexual dimorphism on carcass characteristics of Japanese quail (Coturnix coturnix japonica) reared in derived Savanna zone of Nigeria // International Journal of Science, Environment and Technology. – 2014. – Т. 3. – №. 1. – С. 250-257.
21. Yakubu A. Discriminant analysis of sexual dimorphism in morphological traits of African Muscovy ducks //Archivos de zootecnia. – 2011. – Т. 60. – №. 232. – С. 1115-1123.

REFERENCES

1. Alekseev, F.F., Productive qualities of turkeys of various lines of the Hidon cross when kept in cages and on litter. / F.F. Alekseev, S.F. Kurilkin // New in the maintenance of poultry. OUTSIDE THE TYPE. - Zagorsk. 2001. pp. 45-47.
2. Biological development of chickens of the Kuban 7 UK cross and the reaction of the spleen in conditions of traditional immunoprophylaxis / E.V. Vinogradova, V.V. Usenko, I.V. Tarabrin, Ya.N. Derevyanko // Proceedings of the Kuban 42 State Agrarian University. - 2013. − No. 44. – pp. 152-155.
3. Bondarenko, Yu.V. Comparative characteristics and modern classification of methods for determining the sex of young poultry / Yu.V. Bondarenko, H. A. Omar // Bulletin of Sumy National Agrarian University. – 2013. – No. 7. – pp. 11-120. - EDN QIQOMX
4. Vinnichuk D.T. Dimorphism and cattle breeding / D.T. Vinnichuk. Scientific works of the USHA. – Kiev. 1974. Issue 134. pp. 75-78.
5. Karapuz V.D. Sexual dimorphism and reproductive qualities of pigs / V.D. Karapuz. – Kherson, 1996. – 53s.
6. Kozlova S.V., Krasnolobova E.P., Veremeeva S.A., Cheremena N.A. Morphological features of the spleen of broiler chickens when using immunostimulating drugs / S.V. Kozlova, E.P. Krasnolobova, S.A. Veremeeva, N.A. Cheremena. // Bulletin of KrasGAU. 2022. No. 9 (186). pp. 171-178.
7. Koryak, V. A. Fundamentals of histological technique: a textbook / V. A. Koryak, L. A. Nikolaeva. Irkutsk: IGMU, 2020. 85 p. — Text: electronic // Lan: electronic library system. - URL: https://e.lanbook.com/book/276134 (accessed on 15.01.2025). — Access mode: for authorization. users.
8. Krasnolobova E.P., Kozlova S.V., Veremeeva S.A., Bakharev A.A. Anatomical and histological characteristics of the spleen of ARBOR ACRES+ cross-country broilers under the influence of a stress factor / E.P. Krasnolobova, S.V. Kozlova, S.A. Veremeeva, A. Bakharev. // Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy. 2021. No. 2. pp. 42-48.
9. Lobanova, A.A. Comparative characteristics of the cultivation of turkeys of the BIG-6 and Hybrid Converter cross by productive indicators / A.A. Lobanova, O.A. Kortikova // Innovative ideas of young researchers for the Russian agro-industrial complex: Collection of articles of the All-Russian Scientific- practical conference of young scientists. – 2017.
10. Features of the adaptation of the body of turkeys in a poultry farm / S. V. Kozlova, S. A. Veremeeva, E. P. Krasnolobova [et al.] // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2023. – No. 4. – pp. 276-284. - DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.4.276. - EDN USHSCB.

11. Ostapenko, V. I. Sexual dimorphism of poultry and its effect on productivity / V. I. Ostapenko, Yu.V. Bondarenko // Actual problems of intensive development of animal husbandry. – 2017. – No. 20-1. – pp. 77-84. - EDN YNDXDU.
12. Rebezov, Ya.M. Dynamics of live weight of turkeys of different genotypes / Ya.M. Rebezov, O.V. Gorelik // Knowledge of the young for the development of veterinary medicine and the agro-industrial complex of the country: Proceedings of the international scientific conference of students, postgraduates and young scientists, November 22-23, 2018. – St. Petersburg: Publishing House of the FSBEI IN SPbGAVM, 2018.
13. Seleznev, S. B. The use of allometry to calculate the absolute mass of the heart in quails / S. B. Seleznev, D. A. Gusev, G. A. Vetoshkina // Theoretical and applied problems of the agro-industrial complex. – 2021. – № 1(47). – Pp. 56-59. - DOI 10.32935/2221-7312-2021-47-1-56-59. - EDN QIBBHV.
14. Stepanova E.V. Morphology of the spleen of Hysex brown cross chickens in postnatal ontogenesis: dis. ... kand. veterinarian. nau Finogenova Yu.A. On the age morphology of the broiler spleen / Yu.A. Finogenova, E.V. Zaitseva, H.H. Shouty. // Environmental safety of the region. Bryansk, 2009− pp. 372-375k / E. V. Stepanova. Bryansk, 2006. 142 p.
15. Fedotova, T. K., Gorbacheva, A. K. Variability of sexual dimorphism of the main anthropometric body sizes of newborns in connection with the degree of urbanization // Bulletin of the Moscow University. Episode 23. Anthropology. 2021. №2. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/izmenchivost-polovogo-dimorfizma-osnovnyh-antropometricheskih-razmerov-tela-novorozhdennyh-v-svyazi-so-stepenyu-urbanizatsii (accessed on 15.02.2025).
16. Tsvetkov Ilya Nikolaevich, Dykarov Stanislav Vyacheslavovich, Korabol Nikolai Pavlovich, Korabol Pavel Nikolaevich The role of sexual dimorphism in the variability of the skeleton of the limbs of the American mink (Neovison vison) // Izvestia of the Velikiyoluk state agricultural academy. 2017. No.5. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/rol-polovogo-dimorfizma-v-izmenchivosti-skeleta-konechnostey-amerikanskoy-norki-neovison-vison (accessed on 02/15/2025).
17. Chirkov D.I. Selection of parental pairs in connection with sexual dimorphism / I.D. Chirkov //Animal husbandry. – 1964. – No. 7. – pp. 56-59.
18. Shamaun A. Histostructure of immunocompetent organs of vaccinated poultry treated with Kombiolax and Suvar / A. Shamaun // Proceedings of the international scientific and production conference on actuals. probl. agroprom. complex (part 1). Kazan, 2003. pp. 254-255.
19. Shevchenko, A. Biological features of the growth and development of turkeys / A. Shevchenko // Poultry farming. – 2010. – № 7. – pp. 35-37.
20. Ojedapo L. O., Amao S. R. Sexual dimorphism on carcass characteristics of Japanese quail (Coturnix coturnix japonica) reared in derived Savanna zone of Nigeria // International Journal of Science, Environment and Technology. – 2014. – Vol. 3. – No. 1. – pp. 250-257.
21. Yakubu A. Discriminant analysis of sexual dimorphism in morphological traits of African Muscular ducks //Archivos de zootechnia. – 2011. – Vol. 60. – No. 232. – pp. 1115-1123.

УДК: 611.423: 611.317: 599.735.52
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.367

ПОКАЗАТЕЛИ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИЕ СОСТОЯНИЕ ГЕПАТОБИЛИАРНОЙ СИСТЕМЫ ЦЫПЛЯТ ПРИ ДЕЙСТВИИ ПРОБИОТИКА И ЭНРОФЛОКСАЦИНА

Круть У.А. – канд. биолог. наук, доц. каф. биотехнологии и микробиологии (ORCID 0009-0009-6341-9750); **Потапова М.С.** * – асс. каф. биологии (ORCID 0009-0000-4642-60412); **Шайдорова Г.М.** – асс. каф. биохимии (ORCID 0000-0002-9467-027X); **Выросткова А.С.** – лаборант-исследователь (ORCID 0009-0007-4601-8870); **Болгов А.А.** [1] – асп. каф. фармакологии и клинической фармакологии (ORCID 0000-0001-9708-8181)

ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

*krut@bsuedu.ru

Ключевые слова: *печень, цыплята, пробиотики, антибиотикотерапия, гепатобилиарная система.*

Key words: *liver, chickens, probiotics, antibiotic therapy, hepatobiliary system.*

Финансирование: *Материалы подготовлены в рамках Государственного задания № FZWG-2023-0007 по теме: «Адаптивные реакции микроорганизмов: теоретические и прикладные аспекты».*

Поступила: 25.07.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Изучено влияние пробиотика *Bacillus subtilis BKM B3701D* и энрофлоксацина на функциональное состояние печени цыплят яичного кросса Хайсекс Браун. Для изучения влияния пробиотической кормовой добавки на физиолого-биохимический статус цыплят было проведено выпаивание цыплят яичного кросса на базе вивария Белгородского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН штаммом бактерии *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D в дозировке 0,05 мл суспензии на 1 кг массы тела животного (в 1 мл суспензии 109 КОЕ). Забор биоматериала для исследования биохимических и гематологических показателей был осуществлен на первые, пятые, десятые и двадцатые сутки методом внутрисердечной пункции, в этот же временной интервал изучали массу тела животных. Основная часть морфологического исследования выполнена после создания электронной галереи изображений с помощью полуавтоматического сканера микропрепарата Mirax Desk (Carl Zeiss Microimaging GMbH, Германия), что позволяло максимально стандартизовать режимы морфометрического исследования. Установлено, что энрофлоксацин вызывает значительные биохимические (повышение билирубина до 7–10 мкмоль/л, снижение АЛТ на 34%) и морфологические

изменения (увеличение массы печени на 21,7%), свидетельствующие о гепатотоксичности. Введение пробиотика снижало негативные эффекты антибиотика: в комбинированной группе масса печени была на 13% меньше, а активность АЛТ снижалась лишь на 47,7%. Применение только пробиотика способствовало улучшению метаболизма (увеличение живой массы на 18,4%, снижение триглицеридов) и ускоренной дифференцировке гепатоцитов. Полученные данные подтверждают целесообразность использования *B. subtilis* для минимизации последствий антибиотикотерапии в птицеводстве.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В современных условиях интенсивного птицеводства одной из ключевых задач является обеспечение высокой продуктивности и сохранности поголовья птицы при одновременном снижении негативного влияния на ее физиологическое состояние и качество продукции. Особое значение в этом контексте приобретают функциональные особенности печени, поскольку данный орган играет центральную роль в метаболических, детоксикационных и иммунных процессах организма [2-4].

Использование антибиотиков в птицеводстве, несмотря на их эффективность в борьбе с инфекциями, сопряжено с рядом проблем, включая развитие резистентности микроорганизмов, накопление остаточных количеств препаратов в продукции и негативное воздействие на печень как основной орган биотрансформации ксенобиотиков [5,6]. С 1 марта 2025 года в России вступили в силу новые правила использования антибиотиков в животноводстве, включая птицеводство, которые предусмотрены Федеральным законом №636 [1]. Ключевые положения закона регламентируют использование антибиотиков. В связи с этим повышается актуальность поиска новых профилактических средств, улучшающих общие физиологические и продуктивные показатели в животноводческой области [13].

Целью нашего исследования было изучения действия энрофлоксацина и пробиотического микроорганизма *Bacillus subtilis* на печень цыплят яичного кросса Хайсекс Браун, а также оценить их влияние на функциональное состояние органа.

Полученные данные позволят выявить потенциальные преимущества пробиотического микроорганизма, обосновать его применение как средства, способствующего поддержанию гепатобилиарного здоровья птицы, а также могут быть использованы для разработки более безопасных и эффективных схем выращивания цыплят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Для изучения влияния пробиотической кормовой добавки на физиолого-биохимический статус цыплят было проведено выпаивание цыплят яичного кросса на базе вивария Белгородского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН штаммом бактерии *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D в дозировке 0,05 мл суспензии на 1 кг массы тела животного (в 1 мл суспензии 109 КОЕ).

Все цыплята были разделены на 4 группы и для каждой была подобрана схема рациона питания:

1 группа – контрольная: стандартный рацион питания (зерно, комбикорм, вода);

2 группа – пробиотический микроорганизм (штамм бактерии *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D): стандартный рацион питания + выпаивание пробиотика с первых суток;

3 группа – стандартный рацион питания + выпаивание энрофлоксацина в дозе 200 мг/л первые пять суток;

4 группа – энрофлоксацин + пробиотический микроорганизм: стандартный рацион питания + выпаивание первые пять суток энрофлоксацином, с 1 по 20 сутки выпаивание пробиотиком. Интервал между выпаиванием антибиотиком и пробиотиком составил 12 часов.

Забор биоматериала для исследования биохимических и гематологических показателей был осуществлен на первые, пятые, десятые и двадцатые сутки методом внутрисердечной пункции, в этот же временной интервал изучали массу тела жи-

вотных.

Исследовали биохимические показатели такие, как триглицериды (ммоль/л), билирубин (млмоль/л), АЛТ (аланинаминотрансфераза), мкмоль/(ч*мл), АСТ (аспартатаминотрансфераза), мкмоль/(ч*мл) с помощью наборов стандартных реагентов (Ольвекс-Диагностикум, Россия).

Извлеченные органы и ткани после макроскопического исследования и взвешивания фиксировали в 10% растворе забуференного нейтрального формалина для последующего гистологического исследования.

Для гистологического исследования биологический материал заливали в стандартном режиме в парафин в аппарате для гистологической обработки биологических тканей «TLP-144» (MT Point Technology, Россия) с использованием батареи из этилового спирта и хлороформа. Заливку блоков со стандартной ориентацией кусочков осуществляли на станции для заливки биологического материала в парафин «ESD-2800-M» (MT Point Technology, Россия). Срезы для гистологического исследования толщиной 5 мкм изготавливали на полуавтоматическом ротационном микротоме с системой транспортировки и расправления срезов «RMD-3000» (MT Point Technology, Россия). Окраску осуществляли гематоксилин-эозином (Labiko).

Основная часть морфологического исследования выполнена после создания электронной галереи изображений с помощью полуавтоматического сканера микропрепарата Mirax Desk (Carl Zeiss Microimaging GMbH, Германия), что позволяло максимально стандартизовать режимы морфометрического исследования. Увеличение сканирующего объектива х20. Цифровое увеличение на микрофотографиях и изображениях при анализе варьировало от х20 (при отсутствии программного увеличения) до х800 (при 40-кратном программном увеличении).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Приводя данные по изучению прироста живой массы и массы печени цыплят яичного кросса (таблица 1), можно сделать вывод о том, что на 5 сутки в 3 группе масса печени достоверно увеличилась на 21,7%, в последующие дни эксперимента в данной группе сохранялся увеличенный показатель массы печени на 13% в сравнении с контрольной группой. Однако, стоит отметить, что в экспериментальных группах масса животных была выше, чем в контрольной, что свидетельствует об изменении метаболических процессов.

Результаты биохимического исследования сыворотки крови представлены в таблице 2.

Анализ динамики триглицеридов показал, что в контрольной группе уровень липидов оставался в пределах физиологической нормы (0,3-1,5 ммоль/л), что свидетельствует о стабильности липидного обмена при стандартном рационе. В группе, получавшей пробиотик, наблюдалось снижение концентрации триглицеридов к 20-м суткам, что может быть связано с улучшением липидного метаболизма под действием Bacillus subtilis, как было показано в исследованиях. Введение энрофлоксацина вызывало транзиторную гиперлипидемию к 5-м суткам, вероятно, вследствие стресс-индуцированного нарушения метаболизма, тогда как в комбинированной группе этот эффект был менее выражен, что указывает на протекторное действие пробиотика.

Исследование печеночных показателей выявило значимые различия между группами. Уровень билирубина в контрольной группе соответствовал нормальным значениям (1-5 мкмоль/л), тогда как в группе с пробиотиком отмечалось его незначительное снижение, свидетельствующее об улучшении функции печени. Напротив, введение энрофлоксацина приводило к повышению билирубина до 7-10 мкмоль/л к 5-м суткам, что подтверждает его гепатотоксическое действие [7]. В комбинированной группе прирост билирубина был менее выражен, что согласуется с данными о гепатопротекторных свойствах B. subtilis [11]. Аналогичная динамика наблюдалась для маркеров ци-

толиза гепатоцитов - АЛТ и АСТ: их резкое снижение в группах с антибиотиком к 5 суткам (в 3 группе снижается показатель АЛТ на 34%, в 4 группе на 47,7% в сравнении с контролем), что свидетельствовало о повреждении печени. К 20-м суткам этот эффект был значительно менее выражен.

Таблица 1 – Динамика относительного прироста живой массы и массы печени цыплят (M±m; n =6)

Сутки	1-я группа: Контроль	2-я группа Пробиотик	3-я группа: Антибиотики	4-я группа: Пробиотик и антибиотики
	Абсолютная масса печени, г			
1	1,23±0,04			
5	1,89±0,07	1,8±0,09	2,30±0,17*	1,8±0,07
10	3,08±0,09	3,61±0,11***	3,49±0,19*	3,27±0,21
20	5,84±0,43	6,31±0,13	6,65±0,19*	6,42±0,28
	Масса птицы, г			
1	38,5 ± 0,82			
5	53,03 ± 1,26	48,99 ± 0,85*	51,80 ± 1,74	46,12 ± 2,08***
10	67,33 ± 2,11	80,44 ± 2,84**	81,58 ± 3,83***	79,26 ± 2,55**
20	155,24 ± 8,39	183,74 ± 5,17***	180,82 ± 4,75***	165,16 ± 5,80

**- статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при p<0,05; - статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при p<0,01; * - статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при p<0,001.*

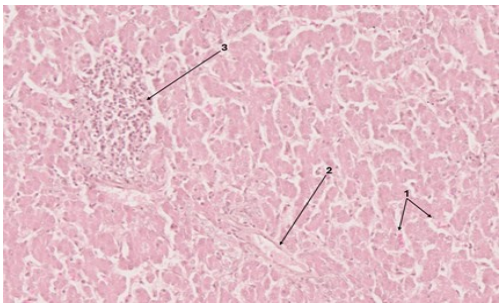


Рисунок 1 – Печень суточного цыпленка (гематоксилин и эозин, 200): 1 – расширенные капилляры; 2 – центральная вена; 3 – скопление эритроидных и миелоидных клеток.

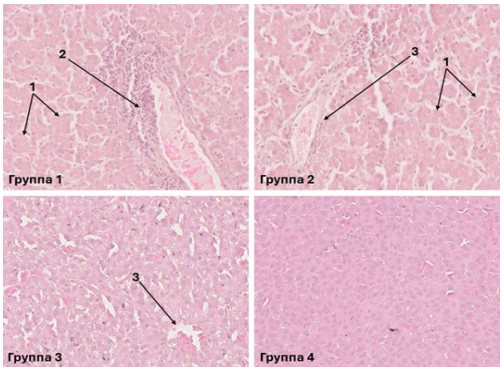


Рисунок 2 – Морфологическая картина печени цыплят на 5 сутки (гематоксилин и эозин, 200): 1 – трабекулы; 2 – триада печени; 3 – центральная вена.

Таблица 2 – Сравнительная характеристика биохимических показателей крови цыплят в ходе эксперимента (M±m; n =6)

Показатель	1-я группа: Контроль	2-я группа Пробиотик	3-я группа: Антибиотики	4-я группа: Пробиотик и антибиотики
1 сутки				
Триглицериды, ммоль/л	0,80 ± 0,09			
Билирубин, мкмоль/л	2,71 ± 0,20			
АЛТ, мкмоль/ (ч*мл)	0,137 ± 0,028			
АСТ, мкмоль/ (ч*мл)	3,173 ± 0,585			
5 сутки				
Триглицериды, ммоль/л	0,33±0,05	0,35±0,10	0,70±0,36	0,35±0,14
Билирубин, мкмоль/л	7,09±0,85	8,29±2,31	3,14±1,69**	3,71±0,23*
АЛТ, мкмоль/ (ч*мл)	0,90±0,22	0,68±0,25	0,59±0,28**	0,43±0,13***
АСТ, мкмоль/ (ч*мл)	3,04±1,70	2,26±0,27	2,92±0,22	2,24±0,77
10 сутки				
Триглицериды, ммоль/л	0,76±0,04	1,45±0,06****	1,14±0,10**	0,99±0,16
Билирубин, мкмоль/л	3,35±0,94	3,45±0,50	2,60±0,32	2,49±0,19*
АЛТ, мкмоль/ (ч*мл)	2,22±0,63	3,10 ±0,68	2,24±0,84	1,56±0,20
АСТ, мкмоль/ (ч*мл)	7,51±0,48	8,13±0,40	7,97±0,64	7,51±0,48
20 сутки				
Триглицериды, ммоль/л	1,42±0,11	1,04±0,04	0,91±0,02**	0,85±0,03****
Билирубин, мкмоль/л	4,42±0,98	2,87±0,39**	2,75±0,54***	2,80±0,55**
АЛТ, мкмоль/ (ч*мл)	0,74±0,23	0,99±0,36	0,4±0,30	0,55±0,18
АСТ, мкмоль/ (ч*мл)	7,62±0,95	6,98±0,53	6,43±0,08	6,45±0,58

**- статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при p<0,05; - статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при p<0,01; * - статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при p<0,001.*

На гистологическом срезе печени суточного цыпленка (1 сутки постэмбрионального развития) наблюдается типичная для раннего постнатального периода структура. Паренхима органа представлена слабо дифференцированными гепатоцитами, формирующими трабекулярные структуры. Ядра гепатоцитов везикулярные, округлые, с мелкозернистым хроматином. Цитоплазма клеток ацидофильная, зернистая.

Междольковые перегородки и портальные тракты выражены слабо, что отражает незрелость органа. Встречаются очаги экстрамедуллярного кроветворения в виде скоплений эритроидных и миелоидных клеток. Синусоидные капилляры узкие, неравномерно расширенные, содержат ядерные элементы гемопоэтического ряда (Рисунок 1). Строма органа представлена нежноволокнистой соединительной тканью с единичными фибробластами.

Морфологическая картина соответствует раннему этапу органогенеза печени с признаками активного гемопоэза и начальной дифференцировки гепатоцитов [9].

Гистологический анализ печени цыплят 1-й (контрольной) группы на 5-е сутки выявил типичную для неонатального периода структуру печеночной паренхимы. Гепатоциты формируют слабо организованные трабекулярные структуры, характерные для раннего постнатального онтогенеза. Ядра гепатоцитов везикулярные, округлые, с мелкозернистым хроматином. В цитоплазме отмечается умеренная зернистость, отражающая интенсивный белковый синтез. Междольковые перегородки слабо выражены, портальные тракты не полностью сформированы. В паренхиме визуализируются многочисленные очаги экстрамедуллярного кроветворения, представленные преимущественно эритроидными и гранулоцитарными клеточными элементами (Рисунок 2). Синусоидные пространства умеренно расширены, содержат значительное количество гемопоэтических клеток. Во 2-й экспериментальной группе трабекулы приобретают более четкую ориентацию, формируя правильные радиальные структуры. Гепатоциты демонстрируют признаки цитоплазматической дифференцировки - снижение зернистости. В 3-й и 4-й группах гепатоциты уменьшены в размерах, ядра крупные (ядерно-цитоплазматическое отношение 1:2-1:3) гиперхромные, с конденсированным хроматином, трабекулярная организация нарушена, отмечается фрагментация печеночных пластинок [10]. Наблюдается значительное снижение количества очагов экстрамедуллярного кроветворения.

Таким образом, применение антибиотиков усиливает негативный эффект приводя к дистрофическим изменениям.

На 10-е сутки эксперимента после 5-дневного введения энтрофлоксацина с последующим 5-дневным применением Bacillus subtilis гистологическая картина печени цыплят 4-й (Рисунок 3) демонстрирует выраженные репаративные процессы в виде реорганизации трабекулярных структур и нормализации ядерно-цитоплазматического соотношения (1:4-1:5), что свидетельствует о восстановлении синтетической функции. Сохраняются минимальные признаки токсического воздействия – очаговая гидропическая дистрофия, единичные апоптотические тельца и перисинусоидальный фиброз, однако гемопоэтическая активность приближается к физиологической норме (единичные перипортальные очаги эритропоэза). Данные изменения указывают на значительный регенераторный потенциал печени при последовательной антибиотико-пробиотической терапии, хотя полная морфофункциональная реституция к этому сроку не достигается.

На 20-е сутки у цыплят контрольной группы (1 группа) гистологическая картина печени соответствовала возрастной норме: наблюдалась четкая трабекулярная организация гепатоцитов с формированием радиально ориентированных печеночных балок. Ядра гепатоцитов были округлыми, везикулярными, с 1–2 ядрышками, цитоплазма — умеренно эозинофильной, без признаков дистрофии. Си-

нусоидные пространства имели равномерный просвет, содержали единичные клетки гемопоэтического ряда. Портальные тракты были хорошо выражены, с минимальным количеством соединительнотканных элементов. В группе, получавшей *Bacillus subtilis*, отмечалась отчетливая трабекулярная организация, незначительное увеличение объема цитоплазмы гепатоцитов. Количество очагов экстрамедуллярного кроветворения было минимальным, что указывало на завершение физиологического гемопоэза в печени (Рисунок 4).

В группе, получавшей энрофлоксацин (3 группа), выявлялись остаточные признаки токсического воздействия: неравномерные очаги гидропической дистрофии гепатоцитов (10–15% клеток), умеренный перисинусоидальный фиброз и единичные апоптотические тельца. Трабекулярная структура была значительно нарушена. В комбинированной группе (4 группа) гистоархитектоника печени была близка к контрольной, с минимальными остаточными явлениями дистрофии (вакуолизация менее 5% гепатоцитов) и умеренным перипортальным фиброзом (Рисунок 4).

Полученные данные подтверждают, что сочетанное применение пробиотика *B. subtilis* с энрофлоксацином позволяет минимизировать негативные метаболические эффекты антибиотикотерапии, снижая степень повреждения печени и почек, а также способствуя более быстрому восстановлению биохимических показателей.

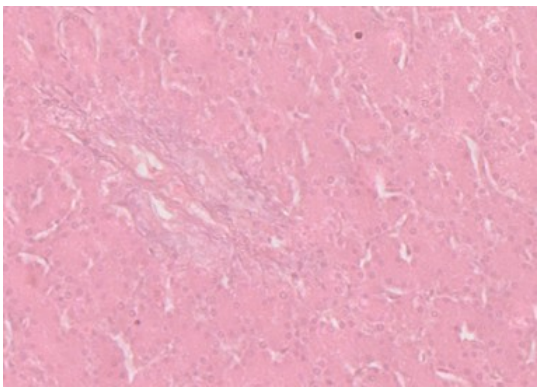


Рисунок 3 – Морфологическая картина печени цыплят 4 группы на 10 сутки (гематоксилин и эозин, 200).

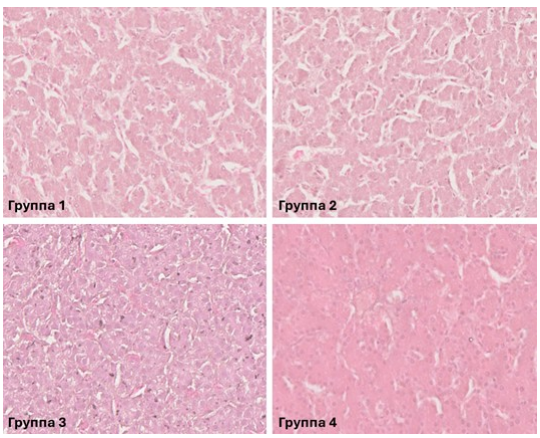


Рисунок 4 – Морфологическая картина печени цыплят на 20 сутки (гематоксилин и эозин, 200)

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведенное исследование выявило значимые изменения биохимических и морфологических показателей печени цыплят под влиянием изучаемых факторов. В группе с энрофлоксацином (3 группа) на 5-е сутки зафиксировано достоверное увеличение массы печени на 21,7% (2,30±0,17 г против 1,89±0,07 г в контроле) и повышение уровня билирубина до 7-10 мкмоль/л, что свидетельствует о гепатотоксическом действии антибиотика. Одновременно отмечалось снижение активности АЛТ на 34% по сравнению с контролем, отражающее угнетение функции гепатоцитов. В комбинированной группе (4 группа) негативные эффекты были менее выражены: масса печени составила 1,8±0,07 г (на 13% меньше, чем в группе 3), а снижение АЛТ - лишь 47,7%, что подтверждает протекторную роль пробиотика. К 20-м суткам в этой группе наблюдалась практически полная нормализация гистологической структуры печени с минимальными признаками дистрофии (менее 5% гепатоцитов).

Применение пробиотика (2 группа) продемонстрировало положительное влияние на метаболизм: к 20-м суткам зафиксировано увеличение живой массы цыплят до 183,74±5,17 г (на 18,4% выше контроля) при одновременном снижении уровня триглицеридов. Гистологический анализ выявил ускоренную дифференцировку гепатоцитов с уменьшением ядерно-цитоплазматического соотношения до 1:4-1:5 и практически полное отсутствие очагов экстрамедуллярного кроветворения, что соответствует более зрелой структуре органа. Эти данные подтверждают, что *B. subtilis* не только снижает токсическое действие антибиотиков, но и способствует оптимизации метаболических процессов в печени, что особенно важно для растущего организма цыплят.

INDICATORS OF THE HEPATOBILIARY SYSTEM OF CHICKENS UNDER THE INFLUENCE OF PROBIOTICS AND ENROFLOXACIN

Krut U.A. – PhD. Biol. Sci., Assoc. Prof. Dept. Biotechnology and Microbiology (ORCID 0009-0009-6341-9750); **Potapova M.S.*** – Assistant Dept. Biology (ORCID 0009-0000-4642-60412); **Shaidorova G.M**. – Assistant Dept. Biochemistry (ORCID 0000-0002-9467-027X); **Vyrostkova A.S.** – Research Assistant (ORCID 0009-0007-4601-8870); **Bolgov A.A.** – Postgraduate Student of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology (ORCID 0000-0001-9708-8181)

Belgorod State National Research University

*krut@bsuedu.ru

Funding: *The materials were prepared as part of the State Assignment No. FZWG-2023-0007 on the topic: "Adaptive Reactions of Microorganisms: Theoretical and Applied Aspects".*

ABSTRACT

The effect of the probiotic Bacillus subtilis VKM B3701D and enrofloxacin on the functional state of the liver of egg-laying Highsex brown chickens was studied. To study the effect of a probiotic feed supplement on the physiological and biochemical status of chickens, egg-laying chickens were fed the Bacillus subtilis VKM B3701D bacterial strain at the vivarium of the Belgorod branch of the Federal Scientific Center for Experimental Veterinary Sciences, Russian Academy of Sciences, at a dose of 0.05 ml of suspension per 1 kg of body weight (1 ml of suspension contains 109 CFU). Biomaterial for biochemical and hematological analysis was collected on days 1, 5, 10, and 20 via intracardiac puncture, and body weight was measured during the same time interval. The main part of the morphological analysis was performed after creating an electronic image gallery using a Mirax Desk semiautomated microscope slide scanner (Carl Zeiss Microimaging GMbH, Germany), which allowed for maximum standardization of the morphometric study modes.It was found that enrofloxacin causes significant biochemical (increased bilirubin to 7–10 μmol/L, decreased ALT by 34%) and

morphological changes (increased liver weight by 21.7%), indicating hepatotoxicity. The introduction of a probiotic reduced the negative effects of the antibiotic: in the combined group, the liver weight was 13% lower, and ALT activity decreased by only 47.7%. The use of a probiotic alone improved metabolism (increased live weight by 18.4%, and reduced triglycerides) and accelerated hepatocyte differentiation. These findings support the use of B. subtilis to minimize the consequences of antibiotic therapy in poultry farming.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Федеральный закон от 29 декабря 2022 г. № 636-ФЗ "О внесении изменений в Федеральный закон "О ветеринарии" и отдельные законодательные акты Российской Федерации" // Собрание законодательства Российской Федерации. 2023.№1. Ст. 1.
2. Журавель Н. А., Журавель В. В., Мифтахутдинов А. В., Щербаков П. Н. Влияние кормовой добавки «Ветоспорин-актив» на эффективность производства мяса птицы // Вестник Курганской ГСХА. 2025. № 1 (53). Режим доступа: https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-kormovoy-dobavki-vetosporin-aktiv-na-effektivnost-proizvodstva-myasa-ptitsy
3. Хадиева Г. Ф., Лутфуллин М. Т., Николаева А. А. Влияние пробиотиков Bacillus subtilis GM2 и GM5 на рост и переваримость корма у цыплят-бройлеров // Ученые записки Казанского университета. Серия Естественные науки. 2019. Т. 161. № 3. С. 472–489.
4. Мухаммадиев Р. С., Валиуллин Л. Р., Барышев М. Г., Гумеров В. Г., Мухаммадиева А. С., Самсонов А. И., Садыков Б. А. Продуктивность, иммунный статус и микробиота кишечника цыплят-бройлеров при включении в рацион пробиотиков на основе Lactiplantibacillus plantarum SG66 и/или Bacillus subtilis GA24 // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2025. № 1. С. 182–200.
5. Лаптев Г. Ю., Тюрина Д. Г. Проблемы применения антибиотиков в птицеводстве // Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. 2020. № 2. Режим доступа: https://cyberleninka.ru/article/n/problemy-primeneniya-antibiotikov-v-ptitsevodstve
6. Сулайманова Г. В., Донкова Н. В. Контаминация антибиотиками животноводческой и птицеводческой продукции // Вестник КрасГАУ. 2020. № 6 (159).
7. Беспамятных Е. Н., Кривоногова А. С., Исаева А. Г., Донник И. М., Ченцова А. Е. Метаболические изменения в организме кур-несушек при применении антибиотика и фитобиотика // Аграрный вестник Урала. 2023. № 7 (236). С. 71–82.
8. Сокова Е. А., Архипов В. В., Мазеркина И. А., Муслимова О. В. Некоторые аспекты оценки лекарственного поражения почек // Безопасность и риск фармакотерапии. 2020. Т. 8. № 3. С. 123–133.
9. Туровинина Л. П. Морфогенетические процессы печени на ранних этапах онтогенеза // Вестник СурГУ.Медицина.2010. № 2 (5).Режим доступа: https://cyberleninka.ru/article/n/morfogeneticheskie-protsessy-pecheni-na-rannih-etapah-ontogeneza
10.Бодрова Л. Ф. Гистологические и гистохимические особенности структуры печени кур, получавших низкокалорийные кормосмеси и рационы с разным уровнем обменной энергии // Достижения науки и техники АПК. 2009. № 3. Режим доступа: https://cyberleninka.ru/article/n/gistologicheskie-i-gistohimicheskie-osobennosti-struktury-pecheni-kur-poluchavshih-nizkokaloriynye-kormosmesi-i-ratsiony-s-raznym
11.Bai S., Wu A., Ding X., Lei Y., Bai J., Zhang K., Chio J. Effects of probiotic-supplemented diets on growth performance and intestinal immune characteristics of broiler chickens // Poultry Science. 2013.Vol. 92. № 3. P. 663–670.
12.Wang Y., Wu Y., Wang Y., Xu H., Mei X., Yu D. Antioxidant properties of probiotic bacteria. Nutrients. 2017.
13.Карпенко Л.Ю., Бахта А.А., Никонов И.Н. Иммунологический статус цыплят-бройлеров на фоне применения полисахаридной фракции бурых водорослей. Меж-

дународный вестник ветеринарии. 2025; (2):232-238. https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2025.2.232.

REFERENCES

1. Federal Law No. 636-FZ of December 29. 2022 "On Amending the Federal Law "On Veterinary Medicine" and Certain Legislative Acts of the Russian Federation". Sobranie zakonodatel'stva Rossiiskoi Federatsii. Collection of Legislation of the Russian Federation. 2023. (part 1). Available from: http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202212290001
2. Zhuravel N. A., Zhuravel V. V., Miftakhutdinov A. V., Shcherbakov P. N. Influence of the feed additive "Vetosporin-active" on the efficiency of poultry meat production. Vestnik Kurganskoi GSKhA. 2025. Available from: https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-kormovoy-dobavki-vetosporin-aktiv-na-effektivnost-proizvodstva-myasa-ptitsy
3. Khadieva G. F., Lutfullin M. T., Nikolaeva A. A. Influence of Bacillus subtilis GM2 and GM5 probiotics on growth and feed digestibility in broiler chickens. Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki. Scientific Notes of Kazan University. Natural Sciences Series. 2019. 161. P. 472-489.
4. Mukhamadiev R. S., Valiullin L. R., Baryshev M. G., Gumerov V. G., Mukhamadieva A. S., Samsonov A. I., Sadykov B. A. Productivity, immune status and gut microbiota of broiler chickens when including probiotics based on Lactiplantibacillus plantarum SG66 and/or Bacillus subtilis GA24 in the diet. Izvestiia Timiriazevskoi Selskokhoziaistvennoi Akademii. Bulletin of the Timiryazev Agricultural Academy. 2025. P. 182-200.
5. Laptev G. Yu., Tyurina D. G. Problems of antibiotic use in poultry farming. Zdorov'e – osnova chelovecheskogo potentsiala: problemy i puti ikh resheniia. Health is the Basis of Human Potential: Problems and Ways to Solve Them. 2020. (2). Available from: https://cyberleninka.ru/article/n/problemy-primeneniya-antibiotikov-v-ptitsevodstve
6. Sulaimanova G. V., Donkova N. V. Contamination of livestock and poultry products with antibiotics. Vestnik KrasGAU. Bulletin of KrasGAU. 2020. P.159. Available from: https://cyberleninka.ru/article/n/kontaminatsiya-antibiotikami-zhivotnovodcheskoy-i-ptitsevodcheskoy-produktsii
7. Bespamyatnykh E. N., Krivonogova A. S., Isaeva A. G., Donnik I. M., Chentsova A. E. Metabolic changes in the body of laying hens when using an antibiotic and a phytobiotic. Agrarnyi vestnik Urala. Agrarian Bulletin of the Urals. 2023. P. 71-82.
8. Sokova E. A., Arkhipov V. V., Mazerkina I. A., Muslimova O. V. Some aspects of drug-induced kidney injury assessment. Bezopasnost' i risk farmakoterapii. Safety and Risk of Pharmacotherapy. 2020. P. 123-133.
9. Turovinina L. P. Morphogenetic processes in the liver at early stages of ontogenesis. Vestnik SurGU. Meditsina. Bulletin of Surgut State University. Medicine. 2010. Available from: morfogeneticheskie-protsessy-pecheni-na-rannih-etapah-ontogeneza
10. Bodrova L. F. Histological and histochemical features of the liver structure in chickens fed low-calorie feed mixtures and diets with different levels of metabolic energy. Dostizheniia nauki i tekhniki APK. Achievements of Science and Technology in the Agro-Industrial Complex. 2009. Available from: https://cyberleninka.ru/article/n/gistologicheskie-i-gistohimicheskie-osobennosti-struktury-pecheni-kur-poluchavshih-nizkokaloriynye-kormosmesi-i-ratsiony-s-raznym
11. Bai S., Wu A., Ding X., Lei Y., Bai J., Zhang K., Chio J. Effects of probiotic-supplemented diets on growth performance and intestinal immune characteristics of broiler chickens. Poultry Science. 2013. P. 663-670.
12. Wang Y., Wu Y., Wang Y., Xu H., Mei X., Yu D. Antioxidant properties of probiotic bacteria. Nutrients. 2017. P. 521.
13. Karpenko L. Yu., Bakhta A.A., Nikonov I.N. The immunological status of broiler chickens against the background of the use of polysaccharide fraction of brown algae. International Journal of Veterinary Medicine. 2025;(2):232-238. (In Russ.)

УДК: 636.2.034+637.07
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.377

ВЛИЯНИЕ КОЛИЧЕСТВА ЛАКТАЦИЙ КОРОВ НА ПОКАЗАТЕЛИ БИОХИМИЧЕСКОГО И АНТИОКСИДАНТНОГО ПРОФИЛЯ ПАСТЕРИЗОВАННОГО И НЕПАСТРЕРИЗОВАННОГО МОЛОКА

Савина А.А. – науч. сотр, гр. аналитической биохимии (ORCID 0000-0003-0257-1643); **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»

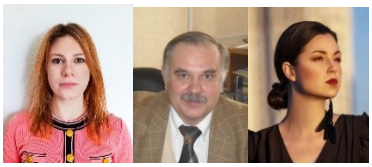
* s.y.zaitsev@mail.ru

Ключевые слова: *молоко коров, пастеризация молока, компонентный состав, антиоксидантная активность.*

Key words: *cow's milk, milk pasteurization, component composition, antioxidant activity.*

Финансирование: *Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках выполнения государственного задания (регистрационный номер ЕГИСУ темы НИР FGGN-2024-0016).*

Поступила: 25.09.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025



РЕФЕРАТ

Молоко, как и продукты на его основе, богаты веществами, способными проявлять антиоксидантную активность и содержит несколько антиоксидантных систем. В данной работе рассмотрены аспекты изменения антиоксидантного статуса молока, проанализированного амперометрическим методом, в контексте изменения биохимического состава молока в разных лактациях. Обнаружены тенденции увеличения суммарной концентрации водорастворимых антиоксидантов (СКВА) при пастеризации молока. В первые три лактации у коров голштинской породы значение СКВА растет вместе с увеличением средних значений суточного удоя и количества соматических клеток (КСК) в молоке. Так СКВА не пастеризованного молока у коров первой лактации составило 15,85±0,66 мг/л, у коров второй лактации 17,03±2,18 мг/л, что на 6,9 % больше, у коров третьей лактации уже на 18,0% больше, чем у второй – 20,77±2,91 мг/л. Внутри групп так же наблюдается одинаковая тенденция увеличения СКВА при пастеризации молока: 1) на +27,3%; 2) на +27,9%; 3) на +21,65%. При этом сохраняется динамика роста СКВА пастеризованного молока и между группами: 1) 22,11±0,33 мг/л; 2) 23,63±2,21 мг/л; 3) 26,51±2,31 мг/л. Различия

СКВА являются не только значимыми, но и достоверными, $p \leq 0,05$. Одновременно происходит незначительное снижение содержания жира и белка в молоке, при этом количество лактозы достоверно не изменяется. Для выводов о статистической достоверности межгрупповых различий были выполнены расчёты по U критерию Манна-Уитни. При условии, что $U_{эксп.} \leq U_{эмп.}$ ($U_{эмп.} = 27$ для $n=10$, при $\alpha=0,05$; $U_{эмп.} = 19$ для $n=10$, при $\alpha=0,01$).

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Молоко, как и продукты на его основе, богаты веществами, способными проявлять антиоксидантную активность, содержит несколько антиоксидантных систем. Наряду с такими известными антиоксидантами, как витамины и ферменты, также велика роль антиоксидантной активности молочных белков и их гидролизатов, липидов и других компонентов молока, особенно после его пастеризации. В работе Pihlanto, A. (2006) [1] сообщается, что остатки гидролизатов белков молока, образующихся при переваривании, обладают антиоксидантной активностью. Часто это короткие из 5–11 аминокислот пептиды, в составе которых обнаружены гидрофобные аминокислоты, пролин, гистидин, тирозин или триптофан. Таким образом, протеолиз молочных белков с одной стороны снижает способность казеина и сывороточных альбуминов ингибировать перекисное окисление липидов [2,3], с другой стороны дает большее число активных коротких пептидов с антиоксидантной активностью. Независимо от концентрации гидролизаты казеина проявляют антиоксидантную активность за счёт высвобождения функциональных групп аминокислот с антиоксидантными свойствами, из нативной структуры казеинов. Свободные радикалы дезактивируются короткими пептидами, содержащими гидрофобные аминокислоты (пролин, триптофан) и избранными свободными аминокислотами (тирозин и цистеин) [4]. Их антиоксидантная обусловлена как прямым ингибированием окислительных реакций, так и способностью связывать ионы металлов, которые могут инициировать эти процессы. Так же они снижают уровень гидропероксидов, предотвращают реакции образования радикалов или нейтрализуют последствия реакций радикального окисления. [5,6]. Как правило, эти белковые фракции сыворотки богаты тирозином, триптофаном, метионином, лизином, цистеином и гистидином — аминокислотами, обладающими антиоксидантной активностью [5]. Гидролизаты молочных белков могут быть использованы в качестве природных антиоксидантов для усиления антиоксидантных свойств функциональных продуктов питания и предотвращения реакций окисления в процессе переработки пищевых продуктов [7,8]. Необходимы дальнейшие исследования для выяснения роли антиоксидантных пептидов в защитной функции человека [9]. Данная информация послужила основанием предположить, что молоко неодинаковое по своим параметрам, будет отличаться и по значению такого интегрального показателя как суммарная концентрация водорастворимых антиоксидантов (СКВА) и после пастеризации.

Цель работы – исследовать влияние количества лактационных периодов на интегральную величину показателя антиоксидантной активности молока коров в образцах нативного и пастеризованного молока во взаимосвязи с компонентным составом молока.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

База для исследований и формирование репрезентативной выборки. Исследования выполнены на базе племенного завода Ладожский (Краснодарский край), на протяжении 2025 года (с января по май). По результатам контрольной дойки из дойного стада были сформированы три группы клинически здоровых коров первой, второй и третьей лактации – соответственно. В каждую группу вошло по 10 коров голштинской породы, с аналогичными показателями суточного удоя и длительности лактации. Средние показатели удоя составили 22,07±1,84, 28,67±1,47 и 32,13±3,47 л/голову в сутки,

среднее число дней лактации 298±41, 281±36, 253±39 дней для первой, второй и третьей групп соответственно.

Подготовка образцов. Условия хранения во время транспортировки соответствовали требованиям ГОСТ 26809.1-2014. Нативные образцы исследовали без дополнительной подготовки, пастеризацию молока проводили путём нагревания образцов в водяной бане до 72-75 С° в течение 15 секунд. Контроль температуры молока в пробирке производился ртутным термометром. Перед измерением молоко остужали до комнатной температуры.

Оборудование для анализа. Подсчет соматических клеток, измерение массовой доли жира, массовой доли белка и лактозы в образцах молока проводили на автоматическом анализаторе молока CombiFoss 7 DC (FOSS, Дания) в отделе популяционной генетики и генетических основ разведения животных ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста.

Измерение интегрального показателя СКВА проводили на проточно-инжекционной системе с амперометрическим детектированием «ЦветЯуза-01», производства Химавтоматика (Россия). В качестве стандарта для определения антиоксидантной активности использовали галловую кислоту. СКВА определяли по измерению силы электрического тока, возникающего при окислении молекул на поверхности рабочего электрода при определённом потенциале. В качестве стандарта при измерении СКВА образцов использовали «рабочие растворы» галловой кислоты (100 мг/дм^3) с массовой концентрацией от 0,2 до 4,0 мг/дм^3, что детально описано в работах. В качестве элюента использовали раствор ортофосфорной кислоты 2,2 ммоль/дм^3. Сигнал от анализируемых образцов молока отображается в виде пиков на графике, для дальнейшего пересчёта используется площадь пика (нА/с). В случае анализа биологических жидкостей, в том числе молока, сигнал превышает сигнал «градуировочного» раствора (4,0 мг/дм^3 галловой кислоты), поэтому образцы молока предварительно разбавляли в 20 раз бидистиллированной водой.

Статистическая обработка результатов проводилась в программе Microsoft Excel. В качестве описательной статистики приводим по тексту и на графиках средние значения и среднеквадратичное отклонение от среднего значения. Вывод о достоверности межгрупповых различий делали на основании расчётов по U критерию Манна-Уитни. При условии, что Uэксп. ≤ Uэмп. (Uэмп. = 27 для n=10, при α=0,05; Uэмп. = 19 для n=10, при α=0,01) то установленные различия статистически значимы. Достоверная разница межгрупповых различий выражена как процент и абсолютное значение.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В ранее опубликованной нами статье [10] рассматривался вопрос количественного изменения показателей антиоксидантной системы организма в зависимости от уровня молочной продуктивности. В рамках данной работы мы акцентировали внимание на изучение влияния пастеризации молока на величину суммарной концентрации водорастворимых антиоксидантов (СКВА) в молоке коров с разным количеством лактаций. Полученные результаты подтвердили, что такие факторы как возраст и период лактации коров оказывают достоверное влияние на биохимический состав молока.

На верхнем графике **рисунка 1** отражена тенденция увеличения СКВА пастеризованного молока, нижний график построен по данным исследования образцов не пастеризованного молока. При оценке степени изменений каждая предыдущая величина принималась за 100%. Выявлено, что с увеличением количества лактаций показатель СКВА нативного молока увеличивается. Разница между первой (15,85±0,66 мг/л) и второй (17,03±2,18 мг/л) лактацией составила 6,9% (1,18 мг/л, U=32, p ≥ 0,05), между второй и третьей (20,77±2,91 мг/л) лактацией 18,0% (3,74 мг/л, U=20, p ≤ 0,05).

С каждой последующей лактацией так же увеличивается значение СКВА и пастеризованного молока. У коров первой

лактации оно составило 22,11±0,33 мг/л, второй 23,63±2,21 мг/л (больше на 6,8% (1,52 мг/л), U=14, p ≤0,01), третьей 26,51±2,31 мг/л (больше на 12,2% (2,88 мг/л), U=17, p ≤0,01).

При этом модулирующий эффект пастеризации молока у коров с разным количеством лактации оказался одинаковым. Так у коров первой лактации значение СКВА после пастеризации выросло на 28,3% (6,26 мг/л, U=10, p ≤ 0,01), у коров второй лактации - на 27,9% (6,60 мг/л, U=0, p ≤ 0,01) и третьей - на 21,7% (5,74 мг/л, U=9,5; p ≤ 0,01).

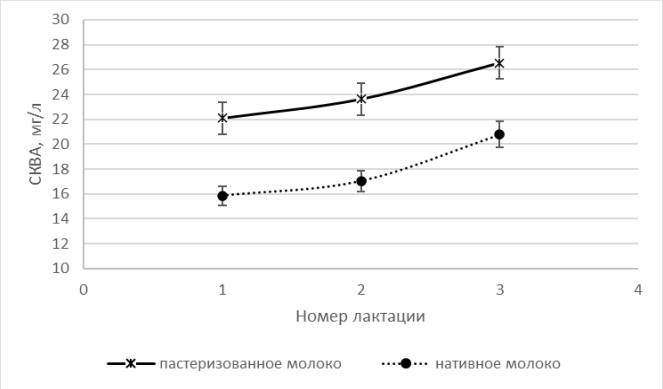


Рисунок 1 – Суммарная концентрация водорастворимых антиоксидантов молока в зависимости от количества лактационных периодов.

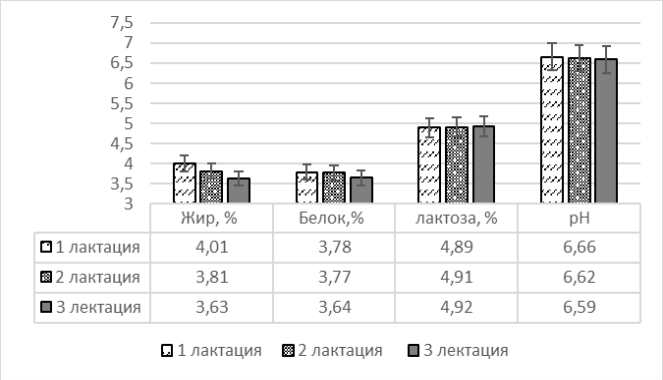


Рисунок 2 – Изменение биохимического состава молока коров голштинской породы в зависимости от номера лактации.

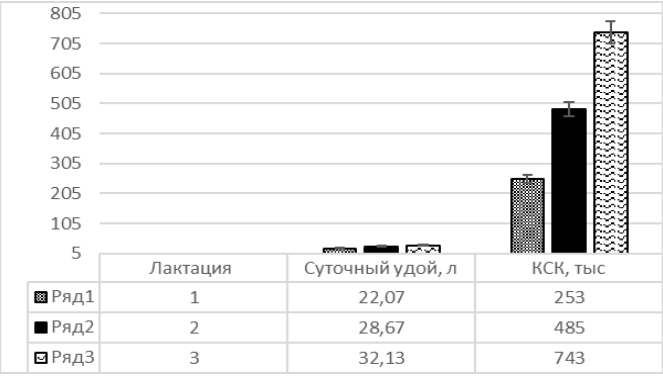


Рисунок 3 – Изменение молочной продуктивности и количества соматических клеток (КСК) молока коров голштинской породы в зависимости от номера лактации.

Предположительно, при пастеризации происходит частичная денатурация белков молока и изменение конформации жировых шариков путём дестабилизации их структуры и оболочки под воздействием тепла, что в свою очередь повышает количество экспонированных «во вне» остатков ароматических аминокислот, которые среди прочих дают наивысший сигнал при детектировании амперометрией. Стоит отметить, что для коров некоторых пород наблюдается идентичная динамика изменения количества удоя, связанного со сроком лактации, до третьей лактации суточный удой увеличивается, далее идёт снижение [11].

На рисунке 2 нами отмечены биохимические изменения в составе молока при увеличении суточного удоя. Так, в сравнении с первой лактацией, во время второй лактации удой увеличился на 29,9% (на 6,6 л, U=12, $p \leq 0,01$), помимо этого отмечено снижение содержания жира на 5,0% (U=23, $p \leq 0,05$) и недостоверное увеличение количества лактозы на 1,7% 4,89±0,05% (на 0,02%, U=57, $p \geq 0,05$). В сравнении со второй в третью лактацию удой увеличился на 12,1% (на 3,46 л U=26, $p \leq 0,05$), однако в молоке уменьшилось содержание жира на 4,7% (на 0,63%, U=28, $p \geq 0,05$), и белка - на 3,4% (на 0,13%). Значимых изменений показателей лактозы и pH не выявлено, хотя можно отметить наличие слабовыраженного положительного вектора изменений между СКВА, удоем и лактозой и отрицательной тенденцией между СКВА, жиром и pH. В данной ситуации более детальное рассмотрение компонентного состава, в том числе белковых фракций и низкомолекулярных веществ может помочь прояснить наблюдаемый феномен. В том числе, ранее [11] нами была обнаружена закономерность изменения СКВА в зависимости от активности ферментативных систем и количества витамина С для нативного молока.

На рисунке 3 нами отмечено, что с увеличением количества лактаций достоверно ($p<0,01$) повышается не только суточный удой и СКВА, но и содержание соматических клеток в молоке, которое соответственно составило: 253±116,13, 485±34,35 и 743±62,48. Выявленная нами закономерности взаимосвязи продуктивности, КСК и биохимии согласуются с данными, полученными нашими коллегами [12] и зарубежными исследователями [13]. Увеличение числа соматических клеток в молоке с каждой последующей лактацией связывают с возрастными изменениями молочной железы, в том числе, вероятно, и наличием хронического воспаления. При этом высока вероятность, что деструктивные изменения и повышенный износ тканей вымени приводит к десквамации (отслаиванию) эпителиальных клеток, а также к возрастанию активности и численности лейкоцитов. По характеру эти возрастные изменения аналогичны тем, которые происходят у животных на поздней стадии лактации, или при превышении нормального срока лактации в 305 дней.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Обнаружены тенденции увеличения суммарной концентрации водорастворимых антиоксидантов при пастеризации молока. В первые три лактации у коров голштинской породы наблюдается однонаправленное изменение средних значений СКВА, суточного удоя и количества соматических клеток (КСК) в молоке. Одновременно происходит незначительное снижение содержания жира и белка в молоке, при этом количество лактозы достоверно не изменяется. Таким образом, интегральный показатель антиоксидантной активности изменяется с количеством лактаций, число которых в свою очередь, существенно влияет на молочную продуктивность и биохимический состав молока. Все вышесказанное свидетельствует о возможности использования показателя суммарной концентрации водорастворимых антиоксидантов (СКВА) для оценки качества молока и продуктивного потенциала при условии набора достаточной выборки и определения референсных значений.

INFLUENCE OF THE NUMBER OF COW LACTATIONS ON THE BIOCHEMICAL AND ANTIOXIDANT PROFILE OF PASTEURIZED AND UNPASTEURIZED MILK

Savina A.A. – Junior Researcher, of the Analytical Biochemistry Group (ORCID 0000-0003-0257-1643); **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

* *s.y.zaitsev@mail.ru*

Financing: *The work was carried out with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation as part of the state assignment (EGISU registration number of the research topic FGGN-2024-0016).*

ABSTRACT

Milk and milk-based products are rich in substances capable of exhibiting antioxidant activity and contain several antioxidant systems. This paper examines aspects of changes in the antioxidant status of milk, analyzed by the amperometric method, in the context of changes in the biochemical composition of milk in different lactations. Tendencies for an increase in the total concentration of water-soluble antioxidants (TAWSA) during milk pasteurization were found. In the first three lactations, an increase in TAWSA in Holstein cows correlates with an increase in average daily milk yield and somatic cell count (SCC) in milk. Thus, the TAWSA of unpasteurized milk in cows of the first lactation was 15.85±0.66 mg/L, in cows of the second lactation 17.03±2.18 mg/L, which is 6.9% more, in cows of the third lactation it was already 18.0% more than in the second – 20.77±2.91 mg/L. Within the groups, the same tendency of increasing TAWSA during milk pasteurization is also observed: 1) by +27.3%; 2) by +27.9%; 3) by +21.65%. At the same time, the dynamics of growth of TAWSA of pasteurized milk is preserved between the groups: 1) 22.11±0.33 mg/L; 2) 23.63±2.21 mg/L; 3) 26.51±2.31 mg/L. The differences in TAWSA are not only significant, but also reliable, $p \leq 0.05$. At the same time, there is an insignificant decrease in the fat and protein content in milk, while the amount of lactose does not change reliably. To draw conclusions about the statistical significance of intergroup differences, calculations were performed using the Mann-Whitney U test. Under the condition that Uexp. ≤ Uem. (Uem. = 27 for n=10, with $\alpha=0.05$; Uem. = 19 for n=10, with $\alpha=0.01$).

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Pihlanto, A. Antioxidative peptides derived from milk proteins // International dairy journal. – 2006. – Т. 16, № 11. – С. 1306–1314.
2. Idris, A., Lassouane, N. Étude de l'activité anti-oxydante des hydrolysats pepsiques et pancréatiques issus des protéines du lait de chèvre et de brebis : PhD-theses (дис. … канд. техн. наук). – Tizi-Ouzou : Université Mouloud Mammeri, 2022. – 64 с.
3. Derdah, D., Himeur, N. Comparaison des activités antioxydantes des hydrolysats des protéines totales de lait de chamelle et de lait de vache traités par la pepsine et la pancréatine : PhD-theses (дис. … канд. техн. наук). – Tizi-Ouzou : Université Mouloud Mammeri, 2022. – 70 с.
4. Grażyna, C. et al. Natural antioxidants in milk and dairy products // International Journal of Dairy Technology. – 2017. – Т. 70, № 2. – С. 165–178.
5. Sanjulián L. et al. The Role of Dairy in Human Nutrition: Myths and Realities // Nutrients. – 2025. – Т. 17. – №. 4. – С. 646.
6. Domínguez, R. et al. Protein oxidation in muscle foods: A comprehensive review // Antioxidants. – 2021. – Т. 11, № 1. – С. 60.
7. Lund, M.N., Baron, C.P. Protein oxidation in foods and food quality // Chemical Deterioration and Physical Instability of Food and Beverages / Eds. Skibsted L.H., Risbo J., Andersen M.L. – Sawston, UK: Woodhead

Publishing, 2010. – P. 33–69.
8. Peña-Ramos, E. A., Xiong, Y. L. Whey and soy protein hydrolysates inhibit lipid oxidation in cooked pork patties // Meat Science. – 2003. – Т. 64. – №. 3. – С. 259-263.
9. Estévez, M., Luna, C. Dietary protein oxidation: A silent threat to human health? // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. – 2017. – Т. 57, № 17. – С. 3781–3793.
10. Савина, А. А., Воронина, О. А., Зайцев, С. Ю. Активность каталазы в молоке и ее корреляции с молочной продуктивностью коров в зависимости от срока лактации // Аграрная наука. – 2024. – Т. 1. – №. 8. – С. 118-123.
11. Савина А. А., Воронина О. А., Зайцев С. Ю. Сезонные закономерности изменения антиоксидантных и микроэлементных параметров молока коров черно-пестрой породы //Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2023. – Т. 24. – №. 5. – С. 858-867.
12. Сермягин, А. А., Сельцов, Н. В., Сивкин, Н. В. Методическое руководство по использованию показателей персистентности лактации в селекции молочного скота по комплексу признаков. – Дубровицы: ВИЖ им. Л.К. Эрнста, 2017. – 70 с.
13. Stobiecka M., Król J., Brodziak A. Antioxidant potential of milk obtained from Holstein-Friesian cows with regard to the subsequent lactations and stage of lactation // Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka. – 2023. – V. 73. – No. 2. – P. 95-104.

REFERENCES

1. Pihlanto, A. Antioxidative peptides derived from milk proteins // International dairy journal. – 2006. – Т. 16, № 11. – С. 1306–1314.
2. Idris, A., Lassouane, N. Étude de l’activité anti-oxydante des hydrolysats pepsiques et pancréatiques issus des protéines du lait de chèvre et de brebis : PhD-theses (дис. … канд. техн. наук). – Tizi-Ouzou : Université Mouloud Mammeri, 2022. – 64 с.
3. Derdah, D., Himeur, N. Comparaison des activités antioxydantes des hydrolysats des protéines totales de lait de chamelle et de lait de vache traités par la pepsine et la pancréatine : PhD-theses (дис. … канд. техн. наук). – Tizi-Ouzou : Université Mouloud Mammeri, 2022. – 70 с.
4. Grażyna, C. et al. Natural antioxidants in milk and dairy products // International Journal of Dairy Technology. – 2017. – Т. 70, № 2. – С. 165–178.
5. Sanjulián L. et al. The Role of Dairy in Human Nutrition: Myths and Realities // Nutrients. – 2025. – Т. 17. – №. 4. – С. 646.
6. Domínguez, R. et al. Protein oxidation in muscle foods: A comprehensive review // Antioxidants. – 2021. – Т. 11, № 1. – С. 60.
7. Lund, M.N., Baron, C.P. Protein oxidation in foods and food quality // Chemical Deterioration and Physical Instability of Food and Beverages / Eds. Skibsted L.H., Risbo J., Andersen M.L. – Sawston, UK : Woodhead Publishing, 2010. – P. 33–69.
8. Peña-Ramos, E. A., Xiong, Y. L. Whey and soy protein hydrolysates inhibit lipid oxidation in cooked pork patties // Meat Science. – 2003. – Т. 64. – №. 3. – С. 259-263.
9. Estévez, M., Luna, C. Dietary protein oxidation: A silent threat to human health ? // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. – 2017. – Т. 57, № 17. – С. 3781–3793.
10. Savina, A. A., Voronina, O. A., Zaitsev, S. Yu. Catalase activity in milk and its correlation with milk productivity of cows depending on the lactation period // Agrarian science. - 2024. - Vol. 1. - No. 8. - P. 118-123.
11. Savina A. A., Voronina O. A., Zaitsev S. Yu. Seasonal patterns of changes in antioxidant and microelement parameters of milk of Black-and-White cows // Agrarian Science of the Euro-North-East. - 2023. - V. 24. - No. 5. - P. 858-867.
12. Sermyagin, A. A., Seltsov, N. V., Sivkin, N. V. Methodological guidelines for the use of lactation persistence indicators in the selection of dairy cattle based on a set of traits. - Dubrovitsy: All-Russian Research Institute of Animal Husbandry named after L. K. Ernst, 2017. - 70 p.
13. Stobiecka M., Król J., Brodziak A. Antioxidant potential of milk obtained from Holstein-Friesian cows with regard to the subsequent lactations and stage of lactation // Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka. – 2023. – V. 73. – No. 2. – P. 95-104.

УДК: 639.331.7
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.384

ИНТЕГРАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КРОВИ МАТОЧНОГО ПОГОЛОВЬЯ КАРПА ОБЫКНОВЕННОГО (*CYPRINUS CARPIO*) ПРИ ЖИРОВОЙ ДИСТРОФИИ ПЕЧЕНИ

Семенова Е.В.* – асп., мл. науч. сотр. лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики (ORCID 0000-0003-3675-5467);

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

* elenasemyonova5@gmail.com

***Ключевые слова**: аквакультура, промысловое рыбоводство, карп обыкновенный, жировая дистрофия печени.*
***Keywords**: aquaculture, commercial fish farming, common carp, liver steatosis.*

Поступила: 14.07.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

В современной ветеринарной ихтиопатологии гематологические и биохимические исследования крови являются важными диагностическими инструментами, позволяющими оценить функциональное состояние организма рыб при различных патологиях. В связи с этим целью данного исследования являлось проведение оценки интегральной характеристики крови маточного поголовья карпа обыкновенного (*Cyprinus carpio*) при жировой дистрофии печени. В исследовании использовали 20 особей маточного поголовья карпа обыкновенного массой 3900 г, выращенных на базе АО «Рыбопитомник» Воронежской области. Гидробионты были разделены на контрольную и опытную группы по 10 особей. Для моделирования патологии опытную группу содержали в водной среде с добавлением сульфата меди II при концентрации 60 мг/л в пересчете на ион металла. Отбор крови производили через 56 часов после начала эксперимента из хвостовой вены. Исследовали гематологические показатели, биохимические параметры плазмы крови и маркеры оксидативного стресса с использованием стандартизированных методик. В результате у особей опытной группы выявлен выраженный синдром печеночной дисфункции, проявляющийся гипопротеинемией с достоверным снижением общего белка на 17,7%, диспропорциональным уменьшением альбуминов на 22,3% и глобулинов на 14,4%. Развивался цитолитический синдром с трехкратным повышением активности АлАТ и увеличением АсАТ в 1,4 раза. Наблюдалась гиперхолестеринемия с повышением концентрации холестерина в 3,1 раза, острофазовая реакция с увеличением С-реактивного белка в 11,5 раз и истощение антиоксидантной системы. Гематологическая картина характеризовалась развитием микроцитарно-гипохромной анемии с двукратным снижением гемоглобина и компенсаторным эритроцитозом, лейкоцитозом, тромбоцитопенией и изменениями лейкоцитарной формулы с относительной лимфопенией. Результаты подтверждают диагностическую ценность гематологических исследований при жировой дистрофии печени у карпа и могут служить основой для раннего мониторинга маточного поголовья.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В современной ветеринарной ихтиопатологии гематологические и биохимические исследования крови являются важными диагностическими инструментами, позволяющими оценить функциональное состояние организма рыб при различных патологиях. Несмотря на определенную трудоемкость данных методов, их применение для диагностики заболеваний маточного поголовья экономически оправдано высокой племенной ценностью производителей. Особый интерес в этом контексте представляет маточное поголовье карпа обыкновенного (*Cyprinus carpio*), для которого гематологическая диагностика приобретает критическую значимость в связи с высокой экономической ценностью производителей и необходимостью сохранения их репродуктивного потенциала [6]. У маточного поголовья карпа отмечается исключительно высокая чувствительность показателей крови к патологическим процессам. Эта особенность связана с интенсивными метаболическими процессами, характерными для половозрелых особей, и активным кроветворением, что обеспечивает быстрое отражение в периферической крови любых функциональных нарушений внутренних органов.

Следует отметить, что гематологические исследования у карпа имеют ряд особенностей, связанных с биологией данного вида. В отличие от млекопитающих, у рыб наблюдается более высокая вариабельность показателей крови в зависимости от температуры воды, сезона года и физиологического состояния. Эритроциты рыб являются ядросодержащими, что требует модификации стандартных методик подсчета клеток. Кроме того, у карпа отсутствует костный мозг, а кроветворение осуществляется в почках, селезенке и других органах, что влияет на динамику гематологических изменений при патологии. Несмотря на общую вариабельность гематологических показателей у рыб, для производителей карпа при стандартных условиях содержания характерны относительно стабильные референсные значения основных показателей крови, что существенно упрощает интерпретацию результатов и повышает точность диагностики [11]. Морфофункциональные изменения гепатоцитов закономерно отражаются на составе периферической крови. Это делает анализ крови незаменимым инструментом для раннего выявления печеночной патологии у производителей, поскольку своевременная диагностика критически важна для предотвращения снижения репродуктивных качеств и обеспечения устойчивого развития рыбоводческих хозяйств [9]. Учитывая изложенные особенности, целью настоящей работы стала оценка интегральной характеристики крови маточного поголовья карпа обыкновенного (*Cyprinus carpio*) при патологии печени.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В исследовании использовали 20 особей маточного поголовья карпа обыкновенного массой 3900 г., выращенных на базе АО «Рыбопитомник» Воронежской области. Лабораторные исследования проводили на базе лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики отдела экспериментальной фармакологии и моделирования живых систем ФГБНУ ВНИИП ФиТ. Для моделирования острой фазы воспаления гидробионты были разделены на 2 группы: контрольную (n=10) и опытную группу (n=10), содержащуюся в водной среде с добавлением сульфата меди II ($CuSO4*5H2O$) при концентрации 60 мг/л в пересчете на ион металла. Отбор крови исследуемых особей из каждой группы (n=10) производился через 56 часов после начала эксперимента.

Периферическую кровь карпа отбирали из хвостовой вены по методике Петровой Э.А. [4]. Место пункции обрабатывали 70% спиртом, иглу вводили под углом 45° к позвоночнику до появления крови в канюле. Для биохимических исследований кровь стабилизировали гепарином натрия (25 ЕД/мл), для гематологических исследований использовали ЭДТА-K_2 (1,5 -2,0 мг/мл крови). После отбора место

укола дезинфицировали.

Концентрацию гемоглобина определяли гемиглобинцианидным методом с использованием набора реагентов «Гемоглобин» производства ООО «Витал Девелопмент Корпорейшн» (Россия) на фотоэлектроколориметре КФК-3-01 (Россия) при длине волны 540 нм. Количество эритроцитов и лейкоцитов подсчитывали в камере Горяева после разведения крови в 3% растворе уксусной кислоты (1:200 для эритроцитов) и 3% растворе уксусной кислоты с метиленовым синим (1:20 для лейкоцитов). Тромбоциты подсчитывали по методу Фонио с окраской по Романовскому-Гимзе, используя иммерсионную микроскопию. Мазки крови готовили по стандартной методике [12, 14]. После 4-минутной сушки препараты фиксировали в смеси Никифорова (2 мин), окрашивали эозином метиленовым синим по Май-Грюнвальду (4 мин), промывали дистиллированной водой, докрашивали азур-эозином по Романовскому-Гимзе (10 мин), повторно промывали и высушивали 30 минут.

Концентрацию глюкозы определяли глюкозооксидазным методом с использованием набора «Глюкоза-Ф» производства ЗАО «Вектор-Бест» (Россия, кат. № А11-124). Концентрацию общего холестерина определяли ферментативным колориметрическим методом с использованием набора «Холестерин общий-Ф» производства ЗАО «Вектор-Бест» (Россия, кат. № А11-125). Активность аланинаминотрансферазы (АлАТ, К.Ф. 2.6.1.2.) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ, КФ 2.6.1.1.) определяли кинетическим УФ-методом с использованием наборов производства ООО «Витал Девелопмент Корпорейшн» (Россия). Активность щелочной фосфатазы (ЩФ, КФ 3.1.3.1.) определяли колориметрическим методом с п-нитрофенилфосфатом с использованием набора производства ЗАО «Вектор-Бест» (Россия).

Концентрацию общего белка определяли биуретовым методом с использованием набора «Общий белок-Ф» производства ЗАО «Вектор-Бест» (Россия, кат. № А11-114). Альбумины определяли колориметрическим методом с бромкрезоловым зеленым (набор «Альбумин-Ф», ЗАО «Вектор-Бест», Россия), глобулины рассчитывали по разности между общим белком и альбуминами. Концентрацию общего билирубина определяли методом Йендрашика-Грофа с использованием набора «Билирубин общий-Ф» производства ЗАО «Вектор-Бест» (Россия, кат. № А11-116). С-реактивный белок определяли иммунотурбидиметрическим методом с использованием набора реагентов «СРБ -латекс» производства ООО «Витал Девелопмент Корпорейшн» (Россия). Все биохимические исследования выполняли на полуавтоматическом биохимическом анализаторе «Hitachi-902»

Активность эритроцитарной супероксиддисмутазы (Cu,Zn-СОД, КФ 1.15.1.1.) определяли по методу Misra, Fridovich в модификации Сирота [7] по степени ингибирования аутоокисления адреналина при pH 10,2 на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ «Спектр», Россия) при длине волны 347 нм.

Общую антиоксидантную активность плазмы оценивали по методу Клебанова [7] путем измерения степени подавления аскорбат-зависимого окисления твина-80 в присутствии ионов Fe^{2+} спектрофотометрическим методом при длине волны 535 нм. Концентрацию оснований Шиффа определяли флюориметрическим методом [7] по реакции с тиобарбитуровой кислотой на флюориметре «Флюорат-02-АБЛФ-Т» (Люмэкс, Россия) при длине волны возбуждения 360 нм и эмиссии 420 нм. Молекулы средней массы (МСМ) определяли спектрофотометрическим методом [7] в депротеинизированной трихлоруксусной кислотой плазме при длине волны 254 нм на спектрофотометре СФ-2000.

Полученные результаты представлены в виде среднего арифметического значения (M) ± стандартная ошибка среднего (m). Статистическую значимость различий между группами оценивали с использованием t-критерия Стьюдента для независимых выборок. Различия считали ста-

тистически значимыми при $p < 0,05$. Статистическую обработку проводили в программе Statistica 10.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS.

При исследовании биохимического профиля контрольной группы маточного поголовья выявлено, что изучаемые показатели практически не выходили за пределы референсных значений (таблица 1).

У особей опытной группы наблюдалось развитие выраженного синдрома печеночной дисфункции, сопровождающегося усиленным окислительным стрессом. Данный патологический процесс характеризовался комплексными нарушениями основных видов обмена веществ.

Наиболее отчетливо печеночная недостаточность проявилась в нарушении белкового обмена. Развившаяся гипопротеинемия характеризовалась достоверным ($p<0,05$) снижением показателей общего белка на 17,7% по сравнению с контрольной группой. При этом выявлялась диспропорция в снижении белковых фракций: альбумины уменьшились на 22,3%, тогда как глобулины — лишь на 14,4%. Такая диспротеинемия отражает угнетение белоксинтетической функции печени и перераспределение белковых фракций в пользу острофазовых компонентов на фоне трофической недостаточности [1].

Параллельно с нарушениями белкового обмена наблюдались критические изменения пигментного метаболизма. Достоверный рост ($p<0,001$) билирубина в опытной группе указывает на тяжелую печеночную недостаточность с нарушением процессов конъюгации и экскреции билирубина [2]. Глубина печеночного повреждения подтверждалась выраженным цитолитическим синдромом. Так отмечалась тенденция к росту активности АсАТ, который превысил значения контрольной группы в 1,4 раза. Активность АлАТ достоверно ($p<0,001$) увеличивалась в опытной группе, достигая различия в 3,6 раза. Преобладание АсАТ над АлАТ указывает на глубину митохондриального повреждения и вовлечение внепеченочных источников фермента при генерализованном метаболическом стрессе, что согласуется с результатами, полученными Михайловым Е.В. и Сапожковой О. А [4].

Значительным изменениям подвергся липидный обмен, что выражалось в развитии гиперхолестеринемии с достоверным повышением ($p<0,01$) в 3,1 раза концентрации холестерина по сравнению группой здоровых гидробионтов. Это отражает накопление эфиров холестерина, снижение их утилизации и ограничение билиарной экскреции в условиях печеночной недостаточности [7]. Системный характер воспалительного процесса обусловлен резким повышением С-реактивного белка, превышающим показатели контроля в 11,5 раз. Данная острофазовая реакция с активацией комплемента и цитокинового каскада патогенетически связана с наблюдаемой диспротеинемией, формируя единый механизм воспалительного ответа [10].

На фоне системного воспаления и печеночной дисфункции развивалось истощение антиоксидантной системы. Активность Cu,Zn-СОД достоверно ($p < 0,01$) снизилась на 22,8%, а общая антиоксидантная активность плазмы на 46,4% ($p<0,05$). Таким образом, выявленный комплекс биохимических изменений формирует картину жировой дистрофии печени у маточного поголовья, характеризующуюся сочетанием цитолитического и холестатического компонентов повреждения органа.

Исследование гематологических показателей периферической крови (таблица 2) позволило провести комплексную оценку состояния кроветворной системы в норме и при патологических изменениях.

В контрольной группе наблюдались физиологически сбалансированные параметры крови. Однако относительно низкое содержание моноцитов (на 53,3% ниже референсных значений) при нормальных показателях остальных параметров следует рассматривать как вариант физиологической нормы, поскольку отсутствие сопутствующих отклонений исключает патологическую природу данного показателя [8].

Таблица 1 – Биохимические показатели плазмы крови и маркеры оксидативного стресса маточного поголовья карпа обыкновенного (Cyprinus carpio)

Показатель	Контрольная группа	Опытная группа
Общий белок, г/л	38,40±1,92	31,63±1,53*
Альбумины, г/л	15,9±0,87	12,36±2,33
Глобулины, г/л	22,50±4,90	19,27±4,69
Билирубин, ммоль/л	6,00±0,50	34,31±1,72***
АлАТ, ед/л	50,55±8,89	120,51±5,80***
АсАТ, ед/л	64,95±9,85	359,8±181,72
Щелочная фосфотаза, ед/л	95,00±4,75	185,00±9,25***
Глюкоза, ммоль/л	4,80±0,24	14,43±0,72
Холестерин, ммоль/л	3,20±0,16	9,70±0,49**
С-реактивный белок, мг/л	2,28±0,40	25,11±1,26
Cu, Zn-СОД, ед/г	1450,00±72,50	1180,00±59,00**
Основания Шиффа, усл. ед.	0,42±0,05	0,78±0,07***
Молекулы средней массы (МСМ), усл. ед	0,24±0,03	0,41±0,04*
Общая антиокислительная активность плазмы (АОА), %	41,00±2,05	28,00±0,14**

*Примечание: * p <0,05, **p <0,01, *** p <0,001.*

Таблица 2 – Гематологические показатели периферической крови маточного поголовья карпа обыкновенного

Показатель		Контрольная группа	Опытная группа
Гемоглобин, г/л		8,10±0,41	4,40±0,22***
Эритроциты, $x10^{12}$/л		1,30±0,07	2,12±0,11**
Лейкоциты, $x10^{9}$/л		5,80±0,29	9,60±0,48*
Тромбоциты, $x10^{9}$/л		65,00±3,25	53,00±2,65*
Нейтрофилы, %	Палочкоядерные	1,8±0,09	4,2±0,21**
	Сегментоядерные	3,5±0,18	8,6±0,43
Эозинофилы, %		0,5±0,03	2,10±0,10*
Базофилы, %		0,5±0,03	1,0±0,05
Лимфоциты, %		92,2±1,15	80,7±2,02*
Моноциты, %		1,5±0,08	3,5±0,18**

*Примечание: * p <0,05, **p <0,01, *** p <0,001.*

В опытной группе гематологическая картина кардинально отличалась от контрольных значений. Развитие анемического синдрома проявлялось достоверным ($p<0,001$) падением концентрации гемоглобина в 2 раза, что выходило за пределы референсного диапазона. Одновременно у особей с жировой дистрофией наблюдалось повышение количества эритроцитов на 63% ($p<0,01$), что создавало парадоксальную ситуацию разнонаправленных изменений. Такая диссоциация указывала на развитие микроцитарно-гипохромного синдрома, при котором организм компенсирует дефицит гемоглобинизации увеличением общего количества эритроцитов для поддержания кислородтранспортной функции [5].

Процессы, связанные с воспалением, в опытной группе характеризовались развитием умеренного лейкоцитоза, что свидетельствовало о системной воспалительной реакции. Параллельно развивалась тромбоцитопения, обусловленная повышенным потреблением тромбоцитов в условиях эндотелиального повреждения и возможным угнетением тромбоцитопоэза. Качественные изменения лейкоцитарной формулы отражали глубокие нарушения иммунного статуса. Произошел сдвиг нейтрофильного пула с тенденцией к увеличению палочкоядерных форм на 57,2% по сравнению со здоровыми гидробионтами, что указывало на мобилизацию менее дифференцированных клеток. Развитие эозинофилии свидетельствовало об активации специфических воспалительных механизмов. Наиболее значимые изменения затронули лимфоцитарную популяцию, доля которой достоверно снизилась ($p<0,05$) на 12,5%, что можно, по мнению Михайлова Е.В. и соавторов, интерпретировать как относительную лимфопению на фоне стресс-ответа и перераспределения клеток в периферические ткани [3].

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Исследование показателей крови маточного поголовья карпа выявило существенные нарушения при жировой дистрофии печени. Патогенетическая взаимосвязь выявленных изменений объясняется системным воздействием метаболических нарушений при исследуемом заболевании. Печеночная дисфункция инициирует каскад нарушений метаболизма железа, приводя к развитию гипохромной анемии с компенсаторным эритроцитозом. Стеатоз-индуцированное воспаление проявляется лейкоцитозом с характерными изменениями лейкоцитарной формулы, отражающими мобилизацию резервов организма в ответ на высвобождение провоспалительных цитокинов. Относительная лимфопения в сочетании с хроническим метаболическим дистрессом создает предпосылки для развития вторичной иммуносупрессии, а тромбоцитопения формирует риск нарушений первичного гемостаза, усугубляя общий метаболический дисбаланс в организме. Результаты подтверждают высокую диагностическую ценность гематологических исследований при жировой дистрофии печени у карпа и могут служить основой для раннего мониторинга маточного поголовья, что критически важно для сохранения репродуктивного потенциала в рыбоводстве.

INTEGRAL BLOOD CHARACTERISTICS OF THE UTERINE POPULATION OF COMMON CARP (CYPRINUS CARPIO) IN LIVER STEATOSIS

Semenova E.V.* – graduate student, Junior researcher, Laboratory of Innovative Recombinant Proteomics (ORCID 0000-0003-3675-5467);

All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy (ARVRIPP&T)

*elenasemyonova5@gmail.com

ABSTRACT

In modern veterinary ichthyopathology, hematological and biochemical blood studies are important diagnostic tools that allow assessment of the functional state of fish organisms under various pathologies. In this regard, the aim of this study was to evaluate the integral blood characteristics of common carp (*Cyprinus carpio*) broodstock with fatty liver dystrophy. The study used 20 specimens of common carp broodstock weighing

3900 g, raised at JSC "Fish Hatchery" in Voronezh Oblast. The aquatic organisms were divided into control and experimental groups of 10 specimens each. To model the pathology, the experimental group was kept in aquatic environment with added copper (II) sulfate at a concentration of 60 mg/L calculated as metal ion. Blood sampling was performed 56 hours after the start of the experiment from the caudal vein. Hematological parameters, blood plasma biochemical parameters, and oxidative stress markers were investigated using standardized methods. As a result, specimens in the experimental group showed pronounced hepatic dysfunction syndrome, manifested by hypoproteinemia with significant decrease in total protein by 17.7%, disproportional reduction of albumins by 22.3% and globulins by 14.4%. Cytolytic syndrome developed with a three-fold increase in ALT activity and a 1.4 -fold increase in AST. Hypercholesterolemia was observed with a 3.1-fold increase in cholesterol concentration, acute-phase response with an 11.5-fold increase in C-reactive protein, and depletion of the antioxidant system. The hematological picture was characterized by development of microcytic-hypochromic anemia with a two-fold decrease in hemoglobin and compensatory erythrocytosis, leukocytosis, thrombocytopenia, and changes in the leukocyte formula with relative lymphopenia. The results confirm the high diagnostic value of hematological studies in fatty liver dystrophy in carp and may serve as a basis for early monitoring of broodstock.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Влияние пробиотика «Бацелл-м» на экспрессию генов обмена веществ, гематологические и биохимические показатели крови карпа обыкновенного (Cyprinus carpio) при гепатопатиях / Е. В. Семенова, Н. А. Стрельников, Е. В. Михайлов, В. Ю. Сулин // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2024. – Т. 60, № 4. – С. 54-59.

2. Дудник Л. Б. Антиоксидантное и антиапоптотическое действие билирубина при патологии печени и желчевыводящих путей: специальность 03.00.02: автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук / Дудник Людмила Борисовна. – Москва, 2004. – 44 с. – EDN NJRPWN

3. Оценка экспрессии генов и биохимических показателей крови карпа обыкновенного при применении пробиотика "Бацелл-м" в условиях антропогенного прессинга / Е. В. Михайлов, Н. В. Пасько, А. В. Голубцов [и др.] // Теория и практика инновационных технологий в АПК : материалы национальной научно-практической конференции, Воронеж, 01 марта – 28 2023 года. – Воронеж: Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра I, 2023. – С. 221-229.

4. Михайлов, Е. В. Ветеринарно-санитарная оценка карпа обыкновенного при применении пробиотика "Бацелл-м" / Е. В. Михайлов, О. А. Сапожкова, Н. П. Саврасова // Теория и практика инновационных технологий в АПК: материалы национальной научно-практической конференции, Воронеж, 01 марта – 28, 2023 года. – Воронеж: Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра I, 2023. – С. 229-236.

5. Морфологические особенности изменения сосудов микроциркуляторного русла миокарда при метаболическом синдроме (экспериментальное исследование) / С. А. Новаковская, Е. И. Калиновская, А. А. Басалай [и др.] // Научные стремления. – 2017. – № 21. – С. 29-31. – EDN YRMJPH

6. Петрова, Э. А. Алгоритм взятия крови у разных видов животных [Электронный ресурс]: учебное пособие / Э. А. Петрова; Краснояр. гос. аграрный ун-т. – Красноярск, 2024. – 115 с

7. Рецкий М. И., Шахов А. Г., Шушлебин В. И. По диагностике, терапии и профилактике нарушений обмена веществ у продуктивных животных: Методические рекомендации //Воронеж. -2005 г. – 2005.

8. Семенова, Е. В. Об актуальности исследования патогенеза и профилактики

гепатозов в аквакультуре Воронежской области / Е. В. Семенова // Инновационные тенденции развития Российской науки: Материалы XVII международной научно-практической конференции молодых ученых, Красноярск, 04–06 марта 2024 года. – Красноярск: Красноярский государственный аграрный университет, 2024. – С. 198-201. – EDN CMIJXW.
9. Тюрюмин, Я. Л. Физиология обмена холестерина (обзор) / Я. Л. Тюрюмин, В. А. Шантуров, Е. Э. Тюрюмина // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2012. – № 2-1(84). – С. 153-158. – EDN PCJMVP
10. Юсупова, Г. К. С-реактивный белок: вопросы лабораторной диагностики / Г. К. Юсупова // Терапевт. – 2023. – № 5. – С. 6-11. – DOI 10.33920/MED-12-2305-01. – EDN RLDOWU
11. Canedo A. et al. Micronucleus test and nuclear abnormality assay in zebrafish (Danio rerio): Past, present, and future trends //Environmental Pollution. – 2021. – Т. 290. – С. 118019.
12. King, A. N. Pathophysiological features of pre-clinical HFrEF and HFpEF models / A. N. King // The Journal of Physiology. – 2024. – DOI 10.1113/jp287516. – EDN ZYGNRV
13. Milla S. et al. Corticosteroids: friends or foes of teleost fish reproduction? // Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. – 2009. – Т. 153. – №. 3. – С. 242-251.
14. Sula E. et al. Digital light microscopy as a tool in toxicological evaluation of fish erythrocyte morphological abnormalities // Microscopy Research and Technique. – 2020. – Т. 83. – №. 4. – С. 362-369.

REFERENCES

1. The effect of the probiotic "Bacell-m" on the expression of metabolic genes, hematological and biochemical blood parameters of common carp (Cyprinus carpio) in hepatopathies / E. V. Semenova, N. A. Strelnikov, E. V. Mikhailov, V. Yu. Sulin // Scientific notes of the educational institution Vitebsk Order of the Badge of Honor State Academy of Veterinary Medicine. - 2024. - Vol. 60, No. 4. - Pp. 54-59.
2. Dudnik L. B. Antioxidant and antiapoptotic effect of bilirubin in pathology of the liver and biliary tract: specialty 03.00.02: abstract of a dissertation for the degree of Doctor of Biological Sciences / Dudnik Lyudmila Borisovna. – Moscow, 2004. – 44 p. – EDN NJRPWN
3. Evaluation of gene expression and biochemical parameters of blood of common carp when using the probiotic "Bacell-m" under anthropogenic pressure / E. V. Mikhailov, N. V. Pas'ko, A. V. Golubtsov [et al.] // Theory and practice of innovative technologies in the agro-industrial complex: materials of the national scientific and practical conference, Voronezh, March 01–28, 2023. – Voronezh: Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter I, 2023. – pp. 221–229.
4. Mikhailov, E. V. Veterinary and sanitary assessment of common carp using the probiotic "Bacell-m" / E. V. Mikhailov, O. A. Sapozhkova, N. P. Savrasova // Theory and practice of innovative technologies in the agro-industrial complex: materials of the national scientific and practical conference, Voronezh, March 01–28, 2023. – Voronezh: Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter I, 2023. – P. 229–236.
5. Morphological features of changes in the vessels of the myocardial microcirculatory bed in metabolic syndrome (experimental study) / S. A. Novakovskaya, E. I. Kalinovskaya, A. A. Basalai [et al.] // Scientific aspirations. – 2017. – No. 21. – P. 29-31. – EDN YRMJPH
6. Petrova, E. A. Algorithm for taking blood from different animal species [Electronic resource]: study guide / E. A. Petrova; Krasnoyarsk State Agrarian University. – Krasnoyarsk, 2024. – 115 p.
7. Retsky M. I., Shakhov A. G., Shushlebin V. I. On the diagnosis, therapy and prevention of metabolic disorders in productive animals: Methodological recommendations // Voronezh. -2005 g. – 2005.
8. Semenova, E. V. On the relevance of studying the pathogenesis and prevention of hepatoses in aquaculture of the Voronezh

region / E. V. Semenova // Innovative trends in the development of Russian science: Proceedings of the XVII international scientific and practical conference of young scientists, Krasnoyarsk, March 4–6, 2024. – Krasnoyarsk: Krasnoyarsk State Agrarian University, 2024. – P. 198–201. – EDN CMIJXW.
9. Tyuryumin, Ya. L. Physiology of cholesterol metabolism (review) / Ya. L. Tyuryumin, V. A. Shanturov, E. E. Tyuryumina // Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences. – 2012. – No. 2-1 (84). – P. 153–158. – EDN PCJMVP
10. Yusupova, G. K. C-reactive protein: issues of laboratory diagnostics / G. K. Yusupova // Therapevt. - 2023. - No. 5. - Pp. 6-11. - DOI 10.33920/MED-12-2305-01. - EDN RLDOWU
11. Canedo A. et al. Micronucleus test and nuclear abnormality assay in zebrafish (Danio rerio): Past, present, and future trends // Environmental Pollution. - 2021. - Vol. 290. - Pp. 118019.
12. King, A. N. Pathophysiological features of pre-clinical HFrEF and HFpEF models / A. N. King // The Journal of Physiology. – 2024. – DOI 10.1113/jp287516. – EDN ZYGNRV
13. Milla S. et al. Corticosteroids: friends or foes of teleost fish reproduction? // Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. – 2009. – T. 153. – No. 3. – pp. 242-251.
14. Sula E. et al. Digital light microscopy as a tool in toxicological evaluation of fish erythrocyte morphological abnormalities // Microscopy Research and Technique. – 2020. – T. 83. – No. 4. – pp. 362-369.

УДК: 636.087.7:579.68
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.393

РАЗРАБОТКА И АПРОБАЦИЯ МЕТОДА ПЕРЕНОСА СИМБИОФАУНЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Слепцов Е.С. [1]* – д-р ветеринар. наук, гл. науч. сотр. лаборатории оленеводства и традиционных отраслей; **Алферов И.В.** [1] – канд. с.-х. наук, ст. науч. сотр. лаборатории селекции и разведения лошадей; **Корякина Л.П.** [2] – канд. ветеринар. наук, доц., зав. каф. физиологии с.-х. животных и экологии; **Румянцева Т.Д.**[2] – вед. специалист научно-исследовательской части АГАТУ; **Федорова П.Н.** [2] – канд. биол. наук, доц. каф. физиологии сельскохозяйственных животных и экологии

[1] ФГБУН ФИЦ «Якутский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» - Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства имени М.Г. Сафронова
[2] ФГБОУ ВО «Арктический государственный агротехнологический университет»

*evgeniycemenovic@mail.ru

Ключевые слова: *микробиоценоз рубца, эндобионтные инфузории, трансплантация пробиотов, крупный рогатый скот, якутская порода, симментальская порода, морфометрия, видовое разнообразие.*
Keywords: *rumen microbiome, endobiotic ciliates, probiotic transplantation, cattle, Yakut breed, Simmental breed, morphometry, species diversity.*

Поступила: 25.06.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ
Проведенные комплексные исследования микробиоценоза рубца крупного рогатого скота выявили различия между породами, с ярко выраженным уникальным статусом якутского аборигенного скота. Установлено, что именно якутские животные являются носителями исключительно богатого и разнообразного сообщества эндобионтных инфузорий, насчитывающего 36 видов, принадлежащих к 12 родам. Это значительно превышает показатели симментальской и помесной пород. Качественный анализ показал наличие у якутского скота уникальных симбионтов, включая редко встречающийся вид *Charonina ventriculi* и морфотип *Metadinium* sp., не описанный ранее. Количественные показатели численности инфузорий варьировали от 200 тыс. до 2 млн/мл, что подтверждает прямую зависимость от типа и питательности рациона. Нами выявлены достоверные морфометрические различия. Проведенный анализ показал, что инфузории видов *Eudiplodinium maggii*, *Metadinium medium* и *Isotricha prostoma*, обитающие в рубце якутского скота, были статистически значимо крупнее ($p < 0.001$) по сравнению с таковыми у животных других изученных пород. Низкие значения коэффициента сходства Жаккара-Малышева объективно подтвердили гипотезу о формировании специфического симбиоценоза у аборигенных животных, обусловленного длительной адаптацией к местным условиям кормления и содержания. Практическим результатом работы стала разработка, стандартизация и апро-

бация метода пересадки симбиофауны. Апробация метода, проведенная в производственных условиях, показала стопроцентную эффективность. Трансплантация приготовленного инокулята пероральным способом 18 реципиентам (5 якутской, 3 симментальской и 10 помесных лактирующих коров) привела к успешному приживлению симбионтов. Контрольный микроскопический анализ проб, отобранных через 7 дней после процедуры, подтвердил наличие и активность пересаженных инфузорий в рубце животных-реципиентов.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Преджелудки жвачных животных представляют собой высокоорганизованную биотехнологическую систему, в которой многокомпонентное сообщество микроорганизмов (бактерии, археи, грибы и простейшие) обеспечивает ферментацию растительных полимеров и превращение сложнопереваримой клетчатки в энергоресурсы и микробный белок для хозяина. Роль этого сообщества выходит за рамки простого «переваривания» кормов: взаимодействия между таксонами определяют направление ферментативных потоков, эффективность усвоения энергии и азота, устойчивость к кормовым и экологическим стрессам [1–4].

Среди компонентов рубцовой микробиоты особое значение имеют симбиотические инфузории (циллиаты). Эти эукариотические эндобионты выполняют множественные функции: ускоряют распад крахмала и растворимых углеводов, участвуют в гидролизе и частичном расщеплении сложных полимеров, потребляют растворённый кислород, создавая анаэробные условия для ключевых целлюлолитических бактерий, а при своём оттоке в тонкий кишечник являются источником легкоусвояемого микробного белка [1, 2, 5]. Морфологические и молекулярные исследования показывают, что разные группы циллиат (entodiniomorphids vs holotrichs) имеют различную функциональную роль: одни больше вовлечены в ферментацию клетчатки, другие — в захват растворимых углеводов и поддержку метаногенеза через перенос водорода/CH_2 [3].

Стабильность и состав рубцовой микробиоты чувствительны к внешним воздействиям. Резкая смена рациона, высокий уровень концентратов, применение антибиотиков, а также стрессы приводят к дисбалансу (дисбиозу), что проявляется в снижении переваримости корма, изменении профиля летучих жирных кислот и потерях продуктивности. Классические подходы (бактериальные/дрожжевые пробиотики) часто оказываются недостаточными при восстановлении сложных сообществ, поскольку не восполняют эукариотическую компоненту рубца — циллиат и связанные с ними трофические сети [4, 6, 7].

В этом контексте аборигенные породы животных, сформировавшиеся в экстремальных условиях (низкая питательность кормов, большая сезонная изменчивость), являются ценным источником адаптированного симбиотического разнообразия. Исследования, проведённые в субарктических регионах, указывают на более богатую и специфичную эндобионтную фауну у аборигенных групп (включая якутский скот), в которой обнаруживаются редкие таксоны, отсутствующие у интродуцированных пород. Такая уникальная симбиоценоза может быть результатом длительной коадаптации хозяина и микробиоты и служит важным ресурсом для разработки комплексных методов трансфаунации и биотрансферов, направленных на повышение продуктивности и устойчивости животных в экстремальных условиях [2, 8].

Целью настоящего исследования была разработка, стандартизация и апробация метода отбора, подготовки, контроля качества и трансплантации живого симбиотического консорциума рубца от здоровых животных-доноров (аборигенных пород) реципиентам с целью коррекции дисбиоза, повышения перевариваемости корма и продуктивности крупного рогатого скота.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводились в период на базе лаборатории воспроизводства и физиологии животных ФИЦ ЯНЦ СО РАН ЯНИИСХ.

Исходный отбор проб содержимого рубца для лабораторных исследований проводили утром, до первого кормления, у клинически здоровых животных. Забор материала осуществляли с помощью пищеводного зонда. Для последующих экспериментов по передаче симбионтов в качестве донора была выбрана клинически здоровая нетель якутской аборигенной породы. Качество полученной биомассы и состав симбионтной фауны контролировали методом световой микроскопии. Для этого из каждой пробы готовили фиксированные мазки-отпечатки. Идентификацию инфузорий до вида проводили на основе морфологических признаков с использованием классических определителей В.А. Догеля (1929) и современных руководств О.А. Корниловой (2003, 2010). Для лучшей визуализации и контрастирования клеточных структур применяли окрашивание метиловым зеленым и раствором Люголя. Для точной дифференциации видов проводили морфометрический анализ: размеры инфузорий и их органелл измеряли с помощью окулярмикрометра, предварительно откалиброванного по объект-микрометру. Для получения репрезентативных данных измерения проводили для не менее чем 30 экземпляров каждого идентифицированного вида.

Количественную оценку инфузорий в исследуемых образцах выполняли стандартным методом «калиброванной капли» по методике О.А. Корниловой. Для сравнения видового состава симбионтной фауны между разными группами животных использовали коэффициенты сходства: коэффициент Жаккара-Малышева и индекс общности фаун Чекановского-Сьеренсена. Сравнительный анализ видового состава проводили с привлечением широкого круга литературных источников, включая работы Lubinsky (1958), Dehority (1975), Lynn & Small (2000), а также ревизии офриосколецид, выполненные Latteur (1968–1970). Статистическую обработку полученных данных, включая проверку значимости различий с помощью критерия хи-квадрат, проводили с использованием программы «Microsoft Excel».

На основании лабораторных исследований был разработан метод отбора проб и биологического контроля биомассы рубца для её использования в профилактических и лечебных целях с целью повышения перевариваемости кормов и продуктивности животных. Апробация данного метода была проведена в условиях коллективного предприятия «Сата», расположенного в Хангаласском районе Республики Саха (Якутия). От нетели якутской породы с помощью желудочного зонда получили пробу рубцовой биомассы. После микроскопического подтверждения высокого содержания и видового разнообразия инфузорий образец был стандартизирован: его развели водопроводной водой до достижения концентрации 5000 инфузорий в 1 миллилитре. Приготовленный инокулят в объеме 100 мл на каждое животное был введен перорально (5 якутской, 3 симментальской и 10 помесных лактирующих коров). Для оценки эффективности передачи симбионтов через семь дней после процедуры провели повторный отбор проб содержимого рубца как у донора, так и у всех реципиентов. Отобранные пробы были проанализированы по описанной выше методике для сравнительной оценки видового состава и численности инфузорий.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате исследований было установлено, что численность микроорганизмов в рубце варьирует в широких пределах: инфузории – от 200 тыс. до 2 млн./мл, бактерии – от 100 млн. до 10 млрд./мл, что коррелирует с типом и питательностью корма. Эти показатели отражают высокую чувствительность микробного сообщества рубца к составу рациона, что согласуется с данными ряда авторов, указывающих на ключевую роль кормовой

базы в формировании структуры и активности микробиоты [9,10].

Наибольшее видовое богатство эндобионтов было выявлено у якутского аборигенного скота – 36 видов инфузорий, принадлежащих к 12 родам. Наиболее распространены были инфузории родов *Entodinium* и *Isotricha*. Уникальным результатом стало обнаружение у якутского скота редко встречающегося вида *Charonina ventricul* и вида *Metadinium* sp., не описанного ранее в литературе. Эндобионтная фауна рубца у симментальской и помесной пород имела меньшее разнообразие и была представлена в основном инфузориями родов *Entodinium* и *Eudiplodinium*. При этом было установлено 8 видов инфузорий, общих для всех исследованных групп скота.

Видовое разнообразие эндобионтов у молодняка якутского скота также было выше, чем у молодняка помесного скота и телят симментальской породы. У якутского скота обнаружены 13 видов инфузорий, встречающихся только у животных данной породы. У телят симментальской породы таких инфузорий оказалось только 2 вида, а у помесного скота специфичных видов инфузорий не было обнаружено, что свидетельствует об обеднении фауны [4].

Компаративный анализ с использованием коэффициента сходства Жаккара-Малышева (Kj-m) и индекса общности фаун Чекановского-Сьеренсена (Ics) подтвердил значительные породные различия (Таблица 1).

Таблица 1 – Сравнение видового состава эндобионтных инфузорий у разных пород КРС

Сравниваемые группы	Коэффициент Жаккара-Малышева (Kj-m)	Индекс общности Чекановского-Сьеренсена (Ics), %
Якутская vs Симментальская	0,67	40%
Якутская vs Помесная	0,24	67%

Низкий коэффициент сходства между якутской и симментальской породами (0,67) подтверждает гипотезу о формировании специфического симбиоценоза у аборигенных пород, адаптированных к местным условиям кормления и содержания.

При анализе морфологии были обнаружены достоверные различия в размерах клеток инфузорий, общих для всех трёх породных групп (Таблица 2). Особи видов *Eudiplodinium maggii*, *Metadinium medium*, *Isotricha prostoma*, обнаруженные у якутского скота, были значительно крупнее ($p<0,001$), что согласуется с данными о морфофизиологических адаптациях эндобионтов к характеру корма [3].

Наибольшие размеры среди всех групп имела инфузория *Metadinium medium* (длина 176,3–224,2 мкм, ширина 117,5 –169,8 мкм), а наименьшие – *Entodinium exiguum* (длина 28,3–36,4 мкм, ширина 18,2–19,8 мкм). Увеличенные размеры инфузорий у якутского скота могут быть связаны с адаптацией к более грубым и волокнистым кормам, требующим более активной и продолжительной ферментации [11].

Наличие уникальных видов эндобионтов у якутского скота указывает на их адаптацию к суровому климату, что также отмечалось в работах по полигастричным животным Якутии [12].

Для объективной оценки физиологического состояния животных были установлены нормативные промеры для разных породных групп (Таблицы 3-5).

Таблица 2 – Сравнение размеров общих видов эндобионтных инфузорий, обнаруженных у трех исследуемых групп крупного рогатого скота (M ± m)

Вид инфузорий	Показатель	Якутский скот	Симм-кая порода	Помесный скот
Entodinium dilobum	Длина, мкм	38,9 ± 0,35	38,8 ± 1,18	38,7 ± 0,79
	Ширина, мкм	25,9 ± 0,59	28,0 ± 1,41	26,8 ± 0,56
	дл./шир.	1,50	1,36	1,45
Entodinium exiguum	Длина, мкм	36,4 ± 1,60	28,3 ± 0,94***	32,7 ± 1,09
	Ширина, мкм	19,8 ± 0,83	18,2 ± 0,58	18,4 ± 1,48
	дл./шир.	1,84	1,55	1,78
Eudiplodinium maggii	Длина, мкм	188,0 ± 4,42	136,0 ± 6,7***	156,7 ± 3,2***
	Ширина, мкм	151,6 ± 2,73	96,2 ± 5,46***	118,0 ± 1,3***
	дл./шир.	1,24	1,41	1,32
Eudiplodinium rostratum	Длина, мкм	41,6 ± 1,60	38,8 ± 0,81	38,7 ± 0,94
	Ширина, мкм	35,1 ± 0,29	19,0 ± 0,77***	27,4 ± 1,01***
	дл./шир.	1,19	2,04	1,41
Eodinium posterovesiculatum m. bilobosum	Длина, мкм	54,8 ± 0,63	57,0 ± 1,39	58,7 ± 0,98**
	Ширина, мкм	31,3 ± 0,61	35,2 ± 0,08***	35,4 ± 0,80***
	дл./шир.	1,75	1,62	1,66
Metadinium medium	Длина, мкм	224,2 ± 10,72	176,3 ± 2,37*	194,7 ± 2,1***
	Ширина, мкм	169,8 ± 5,56	117,5 ± 3,1***	135,4 ± 2,4***
	дл./шир.	1,32	1,50	1,44
Isotricha prostoma	Длина, мкм	135,6 ± 6,34	117,5 ± 3,7	126,7 ± 2,1*
	Ширина, мкм	88,1 ± 1,98	69,5 ± 2,5***	73,4 ± 1,79***
	дл./шир.	1,54	1,69	1,73
Dasytricha ruminantium	Длина, мкм	61,5 ± 2,64	64,0 ± 4,3	62,7 ± 2,3
	Ширина, мкм	31,4 ± 1,05	30,6 ± 1,4	31,2 ± 1,9
	дл./шир.	1,96	2,09	1,98

Примечание: * - p<0,05; ** - p<0,01; * - p<0,001 (по сравнению с показателем у якутского скота).**

Апробация метода трансплантации, в которой участвовал 1 донор якутской породы и 18 реципиентов (5 якутской, 3 симментальской и 10 помесных лактирующих коров), показала 100% эффективность по «приживляемости» значимых инфузорий в новых условиях обитания, что подтверждено микроскопическим контролем через 7 дней после введения инокулята.

Полученные результаты полностью согласуются с данными других исследователей о том, что аборигенные породы являются носителями уникального и более разнообразного микробного пула, обусловленного спецификой кормления и содержания, а также практикой совместного содержания телят с коровами-матерями («корова-телёнок»), что обеспечивает естественную и полную передачу симбионтов [4,10].

Таблица 3 – Промеры животных якутской аборигенной породы, см (M ± m)

Промеры	Молодняк (6-8 мес., n=15)	Молодняк (12-15 мес., n=15)	Взрослые коровы (n=30)
Высота в холке	91,5 ± 1,8	98,4 ± 0,9	112,2 ± 3,2
Косая длина туловища	95,1 ± 2,7	117,9 ± 3,7	141,6 ± 2,7
Обхват груди	115,2 ± 2,5	136,8 ± 2,3	166,4 ± 2,2
Обхват пясти	11,4 ± 0,3	14,2 ± 0,4	16,2 ± 0,4
Глубина груди	42,6 ± 1,3	53,4 ± 1,6	64,2 ± 0,9
Ширина груди	22,3 ± 1,6	25,3 ± 1,8	33,7 ± 0,4
Ширина в маклоках	23,4 ± 0,8	33,2 ± 0,9	41,5 ± 0,6
Живая масса, кг	96,3 ± 4,4	167,3 ± 6,8	329,6 ± 6,7

Таблица 4 – Промеры помесей крупного рогатого скота, см (M ± m)

Промеры	Молодняк (6-8 мес., n=15)	Молодняк (12-15 мес., n=17)	Взрослые коровы (n=33)
Высота в холке	93,9 ± 2,4	105,9 ± 2,4	116,8 ± 3,1
Косая длина туловища	99,3 ± 1,9	119,0 ± 1,6	139,7 ± 1,7
Обхват груди	108,4 ± 3,8	127,5 ± 2,1	164,4 ± 2,3
Обхват пясти	14,2 ± 0,5	15,4 ± 0,3	17,1 ± 0,4
Глубина груди	37,3 ± 1,8	51,1 ± 1,5	62,0 ± 1,9
Ширина груди	20,6 ± 1,9	22,9 ± 2,5	32,5 ± 2,7
Ширина в маклоках	24,9 ± 2,2	34,3 ± 1,2	45,2 ± 3,1
Живая масса, кг	126,8 ± 4,1	235,7 ± 4,1	378,2 ± 4,8

Таблица 5 – Промеры крупного рогатого скота симментальской породы, см (M ± m)

Промеры	Молодняк (6-8 мес., n=16)	Молодняк (12-15 мес., n=15)	Взрослые коровы (n=40)
Высота в холке	96,9 ± 1,9	113,3 ± 2,6	122,7 ± 3,6
Косая длина туловища	105,5 ± 3,3	123,1 ± 1,8	144,4 ± 2,7
Обхват груди	118,4 ± 2,7	133,6 ± 3,2	173,1 ± 2,9
Обхват пясти	14,6 ± 0,5	17,3 ± 0,6	18,4 ± 0,4
Глубина груди	38,8 ± 2,1	56,6 ± 3,2	63,9 ± 2,2
Ширина груди	24,3 ± 3,1	28,8 ± 2,5	35,3 ± 3,2
Ширина в маклоках	25,1 ± 1,4	40,6 ± 1,3	48,5 ± 1,8
Живая масса, кг	137,8 ± 4,1	278,1 ± 5,8	411,8 ± 6,8

Увеличенные размеры инфузорий у якутского скота, вероятно, являются адаптацией к перевариванию грубых кормов, преобладающих в рационе в зимний период. Более крупные инфузории обладают и более высокой ферментативной активностью, что способствует лучшей усвояемости клетчатки и протеина [4].

Пересадка инфузорий открывает широкие перспективы для профилактики дисбиозов и повышения продуктивности, что ранее было подтверждено исследованиями влияния эндобионтов на молочную и мясную продуктивность [13]

Предложенный метод ручного сбора жвачки для приготовления инокулята является простым, неинвазивным, не требующим сложного оборудования и высокоэффективным, что делает его крайне применимым в условиях промышленных и фермерских хозяйств.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A METHOD FOR TRANSFERRING CATTLE SYMBIOFAUNA

Sleptsov E.S. [1]* – Doctor of Veterinary Sciences, Chief Researcher of the Laboratory of Reindeer Herding and Traditional Industries; **Alferov I.V.** [1] – Candidate of Agricultural Sciences, Senior Researcher of the Laboratory of Horse Selection and Breeding; **Koryakina L.P.** [2] – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Physiology of Agricultural Animals and Ecology; **Rumyantseva T.D.** [2] – Leading Specialist of the Research Unit of AGATU; **Fedorova P.N.** [2] – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Physiology of Farm Animals and Ecology

[1] Yakut Scientific Research Institute of Agriculture

[2] Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Arctic State Agrotechnological University»

*evgeniycemenovic@mail.ru

ABSTRACT

Comprehensive studies of the rumen microbiocenosis in cattle revealed significant interbreed variations, with the native Yakut cattle exhibiting a distinctly unique status. It was established that Yakut animals harbor an exceptionally rich and diverse community of endobiontic ciliates, comprising 36 species belonging to 12 genera. This figure substantially exceeds the corresponding indices recorded for Simmental and crossbred animals. Qualitative analysis identified unique symbionts present only in Yakut cattle, including the rarely encountered species *Charonina ventriculi* and a previously undescribed morphotype of *Metadinium* sp. Quantitative parameters of ciliate abundance varied from 200 thousand to 2 million cells per milliliter, confirming a direct correlation with the type and nutritional value of the diet. Of particular scientific interest are the significant morphometric differences identified. A detailed analysis demonstrated that ciliates of the species *Eudiplodinium maggii*, *Metadinium medium*, and *Isotricha prostoma* inhabiting the rumen of Yakut cattle were statistically significantly larger ($p < 0.001$) compared to those found in other studied breeds. Low values of the Jaccard-Malyshev similarity coefficient objectively confirmed the hypothesis of a specific symbiocenosis formation in native animals, resulting from long-term adaptation to local feeding and maintenance conditions. A key practical outcome of this work was the development, standardization, and testing of a symbiofauna transplantation technique. Testing of the method under production conditions demonstrated 100% efficacy. Oral transplantation of the prepared inoculum to 18 recipients (5 Yakut, 3 Simmental, and 10 crossbred lactating cows) resulted in successful symbiont engraftment. Control microscopic analysis of samples collected 7 days post-procedure confirmed the presence and activity of the transplanted ciliates in the rumen of the recipient animals.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Dehority, B.A. Rumen Microbiology: Introduction to Micro-Organisms in the Rumen, Their Activities and Interactions in the Digestion of Plant Materials. Nottingham: Nottingham University Press, 2003. — 372

c. ISBN 978-1897676998.
2.Корнилова, О. А. Эндобионтные инфузории млекопитающих // Функциональная морфология, экология и жизненные циклы животных. Сборник научных трудов кафедры зоологии РГПУ им. А. И. Герцена. Выпуск 6 // СПб: ТЕССА, 2006. С. 21 - 78.
3.Newbold, C.J., de la Fuente, G., Belanche, A., Ramos-Morales, E., & McEwan, N.R. (2015). The Role of Ciliate Protozoa in the Rumen. Frontiers in Microbiology, 6.
4.Weimer P.J. Redundancy, resilience, and host specificity of the ruminal microbiota: implications for engineering improved ruminal fermentations. Front Microbiol. 2015 Apr 10;6:296. doi: 10.3389/fmicb.2015.00296. PMID: 25914693; PMCID: PMC4392294.
5.Williams C.L., Thomas B.J., McEwan N.R., Rees Stevens P, Creevey C.J., Huws S.A. Rumen Protozoa Play a Significant Role in Fungal Predation and Plant Carbohydrate Breakdown. Front Microbiol. 2020 Apr 29;11:720. doi: 10.3389/fmicb.2020.00720. PMID: 32411103; PMCID: PMC7200989.
6.Мирошникова М. С. Основные представители микробиома рубца (обзор) // Животноводство и кормопроизводство. 2020. №4. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/osnovnye-predstaviteli-mikrobioma-rubtsa-obzor (дата обращения: 23.09.2025).
7.Характеристика симбиофауны крупного рогатого скота, разводимого в условиях Якутии / Г. Н. Мачахтыров, Е. С. Слепцов, В. А. Мачахтырова [и др.] // Животноводство и кормопроизводство. – 2023. – Т. 106, № 4. – С. 232-247. – DOI 10.33284/2658-3135-106-4-232. – EDN DGAOSO.
8.Weimer, Paul J et al. “Transient changes in milk production efficiency and bacterial community composition resulting from near-total exchange of ruminal contents between high- and low-efficiency Holstein cows.” Journal of dairy science vol. 100,9 (2017): 7165-7182. doi:10.3168/jds.2017-12746
9.Henderson, Gemma et al. “Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range.” Scientific reports vol. 5 14567. 9 Oct. 2015, doi:10.1038/srep14567.
10.Tapio, Ilma et al. “Taxon abundance, diversity, co-occurrence and network analysis of the ruminal microbiota in response to dietary changes in dairy cows.” PloS one vol. 12,7 e0180260. 13 Jul. 2017, doi:10.1371/journal.pone.0180260
11.Wang, Lijun et al. “The Effects of Different Concentrate-to-Forage Ratio Diets on Rumen Bacterial Microbiota and the Structures of Holstein Cows During the Feeding Cycle.” Animals : an open access journal from MDPI vol. 10,6 957. 31 May. 2020, doi:10.3390/ani10060957
12.Особенности видового состава эндобионтной фауны полигастричных домашних животных Якутии / Е. С. Слепцов, Г. Н. Мачахтыров, В. А. Мачахтырова [и др.] // Ветеринария и кормление. – 2023. – № 6. – С. 65-70. – DOI 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2023-6-15. – EDN MLDQLQ.
13.Эндобионтные инфузории преджелудков и их влияние на мясную имолочную продуктивность крупного рогатого скота в Якутии / Е. С. Слепцов, И. В. Алферов, Я. Л. Шадрина, О. И. Захарова // Ветеринария и кормление. – 2024. – № 5. – С. 83-85. – DOI 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2024-5-20. – EDN LSBHOC.

REFERENCES

1. Dehority, B.A. Rumen Microbiology: Introduction to Micro-Organisms in the Rumen, Their Activities and Interactions in the Digestion of Plant Materials. Nottingham: Nottingham University Press, 2003. — 372 p. ISBN 978-1897676998.
2. Kornilova, O. A. Endobiont ciliates of mammals // Functional morphology, ecology and life cycles of animals. Collection of scientific papers of the Department of Zoology of the Herzen State Pedagogical Univ. of Russia. Issue 6 // St. Petersburg: TESSA, 2006. pp. 21-78.
3. Newbold, C.J., de la Fuente, G., Belanche, A., Ramos-Morales, E., McEwan, N.R. (2015). The Role of Ciliate Protozoa in the Rumen. Frontiers in Microbiology, 6.
4. Weimer P.J. Redundancy, resilience, and host specificity of the ruminal microbiota:

implications for engineering improved ruminal fermentations. Front Microbiol. 2015 Apr 10;6:296. doi: 10.3389/fmicb.2015.00296. PMID: 25914693; PMCID: PMC4392294.
5. Williams C.L., Thomas B.J., McEwan N.R., Rees Stevens P, Creevey C.J., Huws SA. Rumen Protozoa Play a Significant Role in Fungal Predation and Plant Carbohydrate Breakdown. Front Microbiol. 2020 Apr 29;11:720. doi: 10.3389/fmicb.2020.00720. PMID: 32411103; PMCID: PMC7200989.
6. Miroshnikova M. S. Main representatives of the rumen microbiome (review) // Animal Husbandry and Forage Production. 2020. No. 4. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/osnovnye-predstaviteli-mikrobioma-rubtsa-obzor (date of access: 09.23.2025).
7. Characteristics of the symbiofauna of cattle bred in Yakutia / G. N. Machakhtyrov, E. S. Sleptsov, V. A. Machakhtyrova [et al.] // Animal Husbandry and Forage Production. - 2023. - Vol. 106, No. 4. - Pp. 232-247. - DOI 10.33284/2658-3135-106-4-232. - EDN DGAOSO.
8. Weimer, Paul J et al. “Transient changes in milk production efficiency and bacterial community composition resulting from near-total exchange of ruminal contents between high- and low-efficiency Holstein cows.” Journal of dairy science vol. 100.9 (2017): 7165-7182. doi:10.3168/jds.2017-12746
9. Henderson, Gemma et al. “Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range.” Scientific reports vol. 5 14567. 9 Oct. 2015, doi:10.1038/srep14567.
10. Tapio, Ilma et al. “Taxon abundance, diversity, co-occurrence and network analysis of the ruminal microbiota in response to dietary changes in dairy cows.” PloS one vol. 12.7 e0180260. 13 Jul. 2017, doi:10.1371/journal.pone.0180260
11. Wang, Lijun et al. “The Effects of Different Concentrate-to-Forage Ratio Diets on Rumen Bacterial Microbiota and the Structures of Holstein Cows During the Feeding Cycle.” Animals : an open access journal from MDPI vol. 10, 6 957. 31 May. 2020, doi:10.3390/ani10060957
12. Features of the species composition of the endobiont fauna of polygastric domestic animals of Yakutia / E. S. Sleptsov, G. N. Machakhtyrov, V. A. Machakhtyrova [et al.] // Veterinary Science and Feeding. - 2023. - No. 6. - P. 65-70. - DOI 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2023-6-15. - EDN MLDQLQ.
13. Endobiont ciliates of forestomachs and their influence on meat and milk productivity of cattle in Yakutia / E. S. Sleptsov, I. V. Alferov, Ya. L. Shadrina, O. I. Zakharova // Veterinary Science and Feeding. - 2024. - No. 5. - P. 83-85. - DOI 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2024-5-20. - EDN LSBHOC

УДК: 576.362:611.018.26:636.1
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.402

СРАВНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ IN VITRO СЕКРЕТОМОВ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ЛОШАДИ

Трифонова А.В.[1]* – канд. биол. наук, директор по науке (ORCID 0009-0008-0181-2197); **Али С.Г.[1]** – канд. биол. наук, начальник НПЛ клеточных технологий (ORCID 0000-0002-0528-671X); **Нечаев А.Ю.[2,3]** – д-р ветеринар. наук, проф., зав. каф. общей, частной и оперативной хирургии, интерн (ORCID 0000-0001-9035-0036); **Лаврик А.А.[1]** – ген. директор (ORCID 0000-0002-7732-4420); **Минина А. О.[2] –** канд. ветеринар. наук, доц., доц. каф. общей, частной и оперативной хирургии (ORCID 0000-0002-4176-4053).

[1] ООО «Стэм реновацио»
[2] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
[3] ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет»

* trifonova@ns-rabies.ru

***Ключевые слова*:** *мезенхимальные стволовые клетки, культивирование, кондиционированная среда, экстракт, секретом, модель «раны».*

***Key words*:** *mesenchymal stem cells, cultivation, conditioned medium, extract, secretome, «wound healing assay».*

Финансирование: *Материалы подготовлены в рамках Российского научного фонда 2025 года «Использование продуктов секреции мезенхимальных стволовых клеток для стимуляции физиологической и репаративной регенерации кардиореспираторной системы у лошадей» (соглашение №25-16-00265 от 29.05.2025).*

Поступила: 31.08.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Сегодня в регенеративной медицине, традиционно опиравшейся на терапию стволовыми клетками, происходит переход к новому типу биологической регуляции, основанному на межклеточном взаимодействии через секретируемые вещества, известные как секретом. Применение секретома мезенхимальных стволовых клеток (МСК) в регенеративной терапии обладает рядом преимуществ по сравнению с использованием живых клеток, включая возможность модификации состава секретома для достижения определенных терапевтических целей. В настоящем исследовании впервые описана процедура получения секретома мезенхимальных стволовых клеток лошади с использованием двух отличных методов и проведено сравнительное изучение их биологической активности на модели «раны» *in vitro*. С помощью программы ToupView 3.7. на фотографиях измеряли ширину «раны» в каждой из 6 точек для каждой лунки через 0 часов ин-

кубирования (сразу после нанесения «царапины») и 24 ч инкубирования. Рассчитывали среднее значение ширины просвета «царапины» в 0ч и 24 ч. Затем рассчитывали отношение средней ширины «царапины» через 24 часа инкубирования к среднему значению ширины «царапины» через 0 часов инкубирования, после чего рассчитывали для каждого образца «степень зарастания раны по отношению к «К». Результат выражали в % по отношению к контролю. Впервые проведена оценка стабильности биологической активности секретома МСК при хранении в температурном диапазоне от +4 до +8 ^{o}C на протяжении двух месяцев. На основании результатов проведенных исследований будет выбран секретом МСК, являющийся перспективным кандидатом для дальнейших испытаний: сначала на лабораторных животных с целью оценки безопасности при различных путях введения, а затем на лошадях для анализа его влияния на показатели сердечно-сосудистой и дыхательной систем при патологических состояниях как в покое, так и после физической нагрузки.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Регенеративная медицина, представляющая собой междисциплинарную область знаний, активно развивается как в гуманной, так и в ветеринарной практике. Основная цель регенеративных методов лечения – активация процессов репаративной регенерации, направленных на восстановление не только структуры, но и функциональности пораженных тканей и органов. Такой подход имеет значительные преимущества перед традиционными терапевтическими стратегиями [1, 2].

Основной постулат регенеративной медицины заключается в наличии региональных стволовых клеток во всех тканях и органах взрослого организма. Именно эти клетки отвечают за возобновление клеточного состава, а также первыми активируются при повреждениях, обеспечивая восстановление. Под воздействием определенных стимулов эти клетки выходят из состояния покоя, начинают делиться и дифференцироваться в специализированные клетки, замещая поврежденные ткани. Это уникальный механизм, способствующий регенерации и обновлению тканей, присущий каждому организму [3].

В течение длительного времени регенеративная медицина опиралась на использование различных типов стволовых клеток, однако сегодня предпочтение отдается мезенхимным стволовым клеткам (МСК), присутствующим в тканях взрослого организма [1,4]. Огромный терапевтический потенциал МСК обусловлен тремя основными механизмами действия: миграцией в очаг повреждения, дифференцировкой в другие типы клеток и секрецией биоактивных факторов [2]. При этом современные данные указывают на то, что именно третий механизм является ключевым для реализации эффектов МСК.

В настоящее время наблюдается появление нового типа биологической регуляции, основанного на межклеточной коммуникации посредством секретируемых веществ, то есть секретома. Использование секретома МСК в регенеративной терапии имеет ряд преимуществ по сравнению с применением живых клеток: решение вопросов безопасности, дозировки и эффективности, длительное хранение без потери активности, экономичность и практичность, возможность массового производства, сокращение времени до начала лечения, а также возможность корректировки состава секретома для достижения желаемых эффектов [2, 5].

Целью нашей работы было сравнение биологической активности секретомов МСК из жировой ткани лошади, полученных разными способами, на разных сроках культивирования, а также после хранения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Жировую ткань (ЖТ) получали у лошади в Ленинградской области с согласия владельцев. Ветеринарный врач осуществлял надрез бедра лошади в области хвоста и вырезал кусочек подкожной жировой ткани размером 1 см^3. Рана лошади обрабатывалась антисептиками и зашива-

лась. Образцы жировой ткани доставляли в лабораторию в стерильной пробирке в фосфатно-солевом буферном растворе (PBS, phosphate-buffered saline), содержащем пенициллин и стрептомицин (Gibco, США). В условиях ламинарного бокса жировую ткань тщательно промывали стерильным PBS с добавлением 200 мкг/мл цефтриаксона (Синтез, Россия) и 3 мкг/мл амфотерицина B (Biowest, Франция), измельчали при помощи глазных ножниц, добавляли к ней раствор коллагеназы (тип 2) (ПанЭко, Россия) из расчета 500 ед/мл и инкубировали 45 мин при 37°С при постоянном помешивании. По окончании инкубации, клетки осаждали центрифугированием. Жидкую фазу с крупными кусками ткани и зрелыми жировыми клетками удаляли серологической пипеткой, осадок ресуспендировали в среде ДМЕМ (ПанЭко, Россия). Полученную суспензию фильтровали через сетчатый фильтр с размером пор 100 мкм, фильтрат вновь центрифугировали, полученный осадок разводили средой ДМЕМ:ФБС (фетальная бычья сыворотка, Biowest, Франция) (9:1) с добавлением 50 ед/мл пенициллина и 50 мкг/мл стрептомицина и высевали в культуральные флаконы (SPL LifeSciences, Корея). Культивирование проводили в CO_2-инкубаторе при температуре 37°С и содержании 5%CO_2. Через 24 ч ростовую среду с неприкрепившимися клетками удаляли, флаконы несколько раз тщательно промывали PBS с добавлением антибиотиков и снова добавляли аналогичную ростовую среду. Смену среды производили каждые 72–96 ч. Конфлюэнтный монослой формировался к 8 суткам после выделения. Культуру МСК ЖТ лошади накапливали в течение двух пассажей, производя пересев каждые 72–96 ч. Затем клетки были криоконсервированы в среде содержащей 10% диметилсульфоксид (ДМСО, Биолот, Россия) по стандартному трех этапному протоколу: I этап – со скоростью 0,5 град/мин до минус 20°С; II этап – со скоростью 1 град/мин до минус 80°С, с последующим погружением в жидкий азот.

Для оценки потенциала к дифференцировке полученных МСК лошади на четвертом пассаже проводилась направленная дифференцировка в остеогенном и адипогенном направлениях. Индукция адипогенеза проводилась в течение 14 суток при помощи 0,5 мМ 3-изобутил-1-метилксантина, 1мкМ дексаметазона, 1 мкМ инсулина, 0,2 мМ индометацина, выявление липидных капель при помощи окраски OilRed O (Sigma, Германия). Индукция остеогенеза происходила в течение 21 суток при помощи 2 мМ L-глутамина, 50 мкг/мл аскорбиновой кислоты, 10 мкМ дексаметазона и 10 мМ β-глицерофосфата, а выявление солей кальция при помощи окрашивания Alizarin red S.

Была проведена оценка пролиферативных свойств МСК лошади. Для этого на 4 и 10 пассажах была проведена оценка индекса пролиферации культуры, рассчитано время удвоения популяции, проведена оценка морфологии монослоя культуры и морфологии клеток. Индекс пролиферации (ИП) рассчитывался как отношение количества выросших клеток (N_t) к количеству посеянных (N_0), время удвоения популяции – рассчитывалось по формуле $t_d = t/\log_2 (N_t/N_0)$, где t – время роста культуры, ч. Визуальная прижизненная оценка и фотографирование производилась при помощи инвертированного микроскопа Микромед 3И с фотонасадкой.

Получение секретома (продуктов секреции) МСК осуществляли на 4 и 10 пассажах культуры двумя способами. В первом способе после формирования культурой МСК монослоя производилась замена среды на свежую: ростовая среда ДМЕМ без фенолового красного (ПанЭко, Россия) с добавлением ФБС в соотношении 9:1. Накопление продуктов секреции МСК производилось в течение 96 часов. После чего кондиционированная среда из всех культуральных матрасов собиралась в стерильные флаконы. Затем из всех культуральных матрасов снимали клетки, двукратно отмывали их раствором PBS и готовили суспензию клеток в 5 мл PBS.

Из суспензии клеток готовили экстракт МСК путем нескольких циклов замораживания-оттаивания, который добавляли к собранной ранее кондиционированной среде [6]. Для второго варианта собирали описанным ранее способом кондиционированную среду МСК, экстракт МСК не добавляли.

В обоих вариантах дальнейшая очистка и стабилизация секретома проводилась одинаково. Для этого вначале весь объем полученной кондиционной среды фильтровали через глубинный фильтр, необходимый для очистки от клеточного дебриса, а затем проводили ультрафильтрацию через мембрану с селективностью 50 кДа. Для стабилизации к полученному фильтрату добавляли 20 мг/мл глицина, раствор фильтровали через стерилизующий фильтр с размером пор 0,22 мкм в условиях ламинарного бокса. Хранили полученные секретомы МСК в жидком состоянии при температуре +4 - +8°С.

Оценку биологической активности полученных вариантов секретома МСК лошади проводили на модели «раны» *in vitro* [7] в собственной модификации. Для этого МСК высевали в 24-ти луночный планшет и инкубировали до достижения конфлюэнтного монослоя при 37°С в атмосфере с 5% содержанием CO_2. Затем в каждой лунке на сформированном монослое наносили по 2 вертикальные «царапины» при помощи наконечника дозатора 100 мкл, удаляли питательную среду из всех лунок при помощи дозатора, и еще дважды промывали монослой раствором PBS.

Исследуемые образцы секретома предварительно разводили в пробирках до концентрации 1% в питательной среде ДМЕМ, тщательно перемешивая для обеспечения однородности раствора. Полученные разведения вносили в лунки планшета для постановки образцов. В качестве контроля (К) использовали только питательную среду ДМЕМ. При помощи светового инвертированного микроскопа и камеры при увеличении микроскопа 40х фотографировали клеточный монослой в 6 точках вдоль каждой «царапины», инкубировали планшет с культурой клеток в течение 24 ч при 37°С в атмосфере с 5% содержанием CO_2, через 24 ч снова фотографировали клеточный монослой в 6 точках вдоль каждой «царапины». С помощью программы ToupView 3.7. на фотографиях измеряли ширину «раны» в каждой из 6 точек для каждой лунки через 0 часов инкубирования (сразу после нанесения «царапины») и 24 ч инкубирования. Рассчитывали среднее значение ширины просвета «царапины» в 0ч и 24 ч. Затем рассчитывали отношение средней ширины «царапины» через 24 часа инкубирования к среднему значению ширины «царапины» через 0 часов инкубирования, после чего рассчитывали для каждого образца «степень зарастания раны по отношению к «К». Результат выражали в % по отношению к контролю.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате описанного протокола выделения МСК из жировой ткани лошади была получена стабильная культура с характерным видом монослоя и морфологией клеток. Уже на 3-4 сутки после выделения в культуральных флаконах наблюдался рост клеток в виде отдельных колоний (Рис.1А), что является типичным признаком мезенхимальных стволовых клеток при культивировании. На нулевом –первом пассажах культура демонстрировала незначительную морфологическую неоднородность клеточного состава: присутствовали веретенообразные клетки с фибробластоподобной морфологией, мелкие округлые клетки, единичные колонии полигональных клеток и отдельные крупные плоские клетки. Ко второму пассажу посторонние клеточные типы элиминировались, и монослой был представлен преимущественно клетками фибробластоподобной морфологии, характерной для МСК (Рис.1Б).

Индекс пролиферации культуры МСК ЖТ лошади на четвертом пассаже равнялся 7,1 ($ИП_{4п}$ = 7,1), а время удвоения популяции составило 25,5 ч. На десятом – 6,78 ($ИП_{10п}$ = 6,78), время удвоения популяции 26 ч. Таким образом скорость про-

лиферации на четвертом-десятом пассажах была высокой и практически не изменялась. Аналогично, морфология культуры была в течение этого периода без изменений (Рис. 2). Полученные данные говорят о хорошем физиологическом состоянии культуры без признаков старения в течение наблюдаемого периода с четвертого по десятый пассажи.

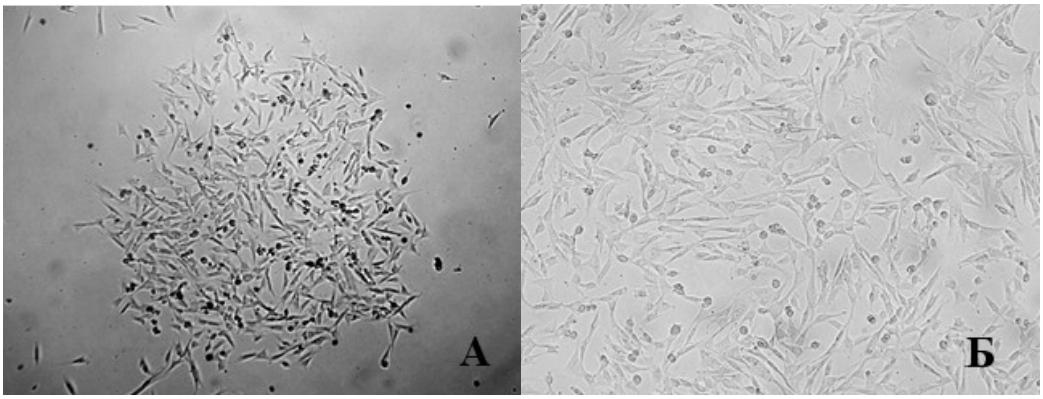


Рисунок 1 – Морфология культуры МСК ЖТ лошади: А – колония, образованная МСК на 3-и сутки после выделения, ув. х40; Б – монослой, формирующийся из МСК на втором пассаже культивирования (1-е сутки роста), ув. х100.

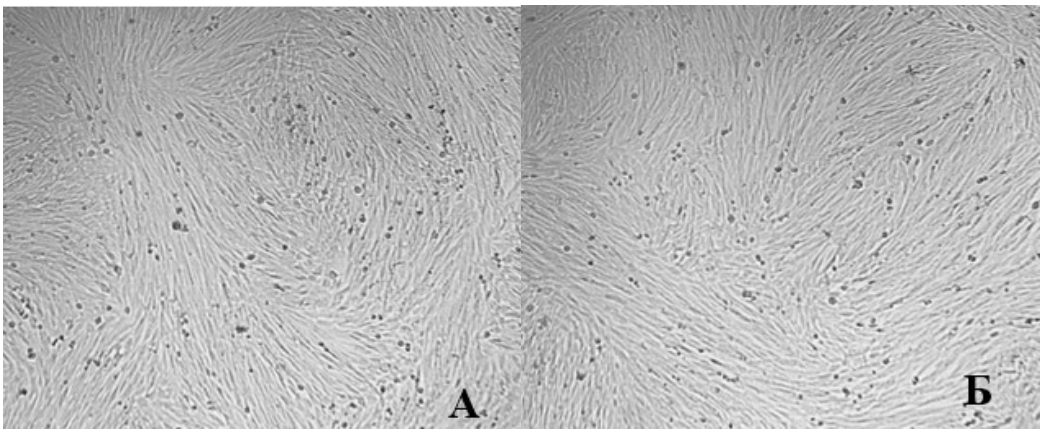


Рисунок 2 – Монослой культуры МСК ЖТ лошади на четвертом (А) и десятом (Б) пассажах на 4-е сутки роста, ув. х40.

При культивировании МСК ЖТ лошади в среде, содержащей индукторы, которые направляют дифференцировку в клетки жировой ткани, на 14 сутки выявляли формирование клеток с липидными везикулами, которые окрашивались Oil-Red O (Рис. 3А). Проведение направленной остеогенной дифференцировки по описанному выше протоколу к 21 суткам также приводило к выпадению солей кальция и окрашиванию красителем Alizarin red S (Рис. 3Б). Реакция основана на образовании оранжево-красных хелатных комплексов с ионами кальция.

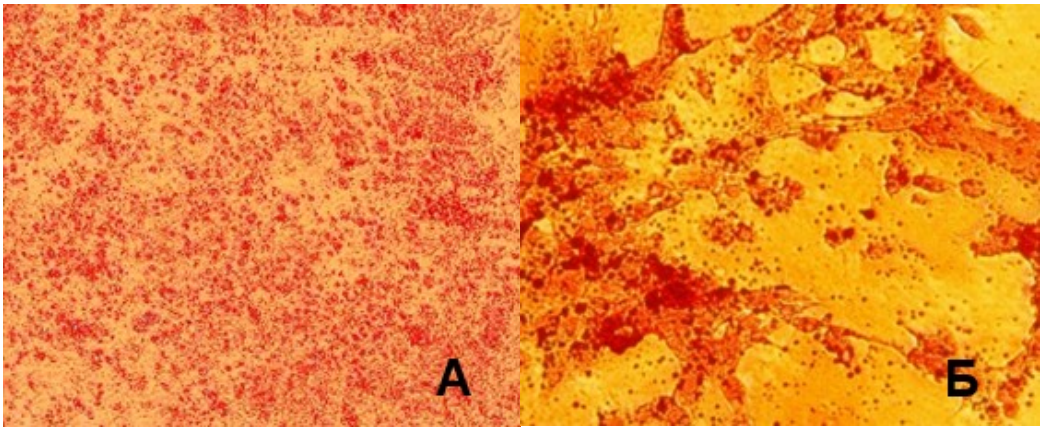


Рисунок 3 – Микрофотографии МСК ЖТ лошади после проведения дифференцировки в адипогенном (А) и остеогенном (Б) направлениях, окрашенных OilRed O и Alizarin red S соответственно, ув. х40.

Секретом МСК ЖТ лошади получали двумя разными способами на четвертом и десятом пассажах:

Вариант №1. Кондиционированная среда с добавлением экстракта клеток, очищенная фильтрованием, затем ультрафильтрованная через фильтр 50 кДа для удаления альбуминовой фракции сыворотки крови и стабилизированная добавлением глицина.

Вариант № 2. Кондиционированная среда без добавления экстракта клеток, очищенная фильтрованием, затем ультрафильтрованная через фильтр 50 кДа для удаления альбуминовой фракции сыворотки крови и стабилизированная добавлением глицина.

Первичную оценку биологической активности полученных секретомов МСК ЖТ лошади проводили *in vitro* на модели «раны» («wound healing assay») как описано выше. Данная модель является широко применяемой методикой для оценки подвижности и скорости миграции клеток. При «заживлении» экспериментальной раны различные типы клеток реагируют сходным образом: клетки поляризуются, формируют протрузии в сторону «раны» и мигрируют (Рис. 4).

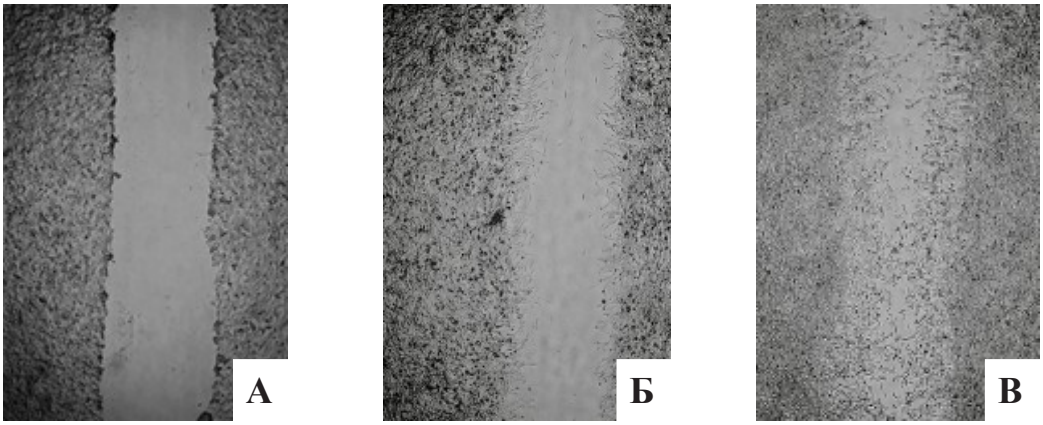


Рисунок 4 – Микрофотографии модели «раны» in vitro при проверке биологической активности секретомов МСК ЖТ лошади. А. – «рана» 0 ч, Б. – «рана» через 24 ч – Контроль-, В. – «рана» через 24 ч – секретом МСК, ув. х40.

Таблица 1 – Сокращение просвета «раны» опытных вариантов по сравнению с контролем, выраженное в %

Варианты	А, % (по отношению к контролю)
Четвертый пассаж, Вариант №1	41 ± 8
Четвертый пассаж, Вариант №2	44 ± 5
Десятый пассаж, Вариант №1	43 ± 7
Десятый пассаж, Вариант №2	39 ± 7
Четвертый пассаж, Вариант №1, хранение при +8°С, 2 месяца	19 ± 12*
Четвертый пассаж, Вариант №2, хранение при +8°С, 2 месяца	39 ± 6

Отличий в биологической активности обоих вариантов секретома (№1 и №2) сразу после получения как на четвертом пассаже, так и на десятом пассаже обнаружено не было (Таблица 1).

Были отобраны пробы каждого варианта на четвертом пассаже по 10 мл в стерильные пробирки (3n) и заложены на хранение при температуре +4 - +8 °С.

Через два месяца хранения варианты №1 (четвертый пассаж) и №2 (четвертый пассаж) снова были проверены на активность на модели «раны» *in vitro*. Было обнаружено падение активности в Варианте №1 после хранения. Биологическая активность Варианта №2 за два месяца не изменилась.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Использованные в нашей работе методы культивирования МСК и сбора кондиционированной среды для получения секретома являются наиболее распространенными и обеспечивают получение комплекса регуляторных молекул, оказывающих выраженное стимулирующее воздействие на клетки-мишени. Однако, мы впервые провели сравнение биологической активности секретомов МСК лошади, содержащих экстракт МСК и без его добавления, для понимания целесообразности использования данного источника регуляторных веществ. Было показано, что добавление экстракта МСК к кондиционированной среде не оказывает влияния на миграцию и пролиферацию клеток на модели *in vitro*. Стимуляция данных процессов в обоих вариантах оказалась на одном уровне. Следующим этапом мы установили, что в диапазоне с четвертого по десятый пассажи культуры МСК биологическая активность полученных секретомов не изменяется, оставаясь выше на ~40%, чем в контроле. Это говорит об отсутствии физиологического старения культуры МСК на этих сроках культивирования и возможности использования культур для получения биологически активных регуляторных веществ. Показано, что при хранении секретома МСК в жидком состоянии в температурном диапазоне от +4 до +8 °С на протяжении двух месяцев снижения биологической активности варианта №2, полученного на основе только кондиционированной среды МСК, не происходит. В отличие от варианта №1, содержащего также экстракт МСК, где наблюдается снижение биологической активности почти в два раза. Вероятно, это связано с активностью лизосомальных ферментов – протеаз и нуклеаз, высвобождающихся при разрушении клеток. Установленное снижение при хранении активности секретома, полученного с добавлением экстракта МСК, дало нам основание для выбора секретома – кандидата для проведения дальнейших испытаний на животных.

В современной ветеринарной практике лекарственные препараты на основе секреторных продуктов МСК нашли широкое применение в ортопедии и травматологии, способствуя сокращению сроков заживления и улучшению качества регенерации тканей, при этом предотвращая

образование рубцовой ткани. В настоящее время наблюдается расширение спектра показаний к применению секретома МСК, обусловленное его уникальными иммуномодулирующими и регенеративными свойствами, а также ведется разработка терапевтических протоколов для лечения различных заболеваний. В частности, наша исследовательская группа изучает влияние секретома МСК на кардио-респираторную систему лошадей с целью достижения устойчивой ремиссии заболеваний, восстановления их работоспособности, а также повышения толерантности к физическим нагрузкам у здоровых лошадей в процессе интенсивной подготовки.

COMPARE THE IN VITRO BIOLOGICAL ACTIVITY OF MESENCHYMAL STEM CELL SECRETIONS ISOLATED FROM HORSE ADIPOSE TISSUE

Trifonova A. V.[1]* – PhD, Director of Science (ORCID 0009-0008-0181-2197); **Ali S.G.**[1] – PhD, Head of NPL of Cellular Technologies (ORCID 0000-0002-0528-671X); **Nechaev A.Y.** [2,3] – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of General, Private and Operative Surgery, intern (ORCID 0000-0001-9035-0036); **Lavrik A. A.**[1] – CEO of Stem Renovation LLC (orcid 0000-0002-7732-4420); **Minina A. O.**[2] – PhD, Associate Professor, Associate Profes-sor of the Department of General, Private and Operative Surgery (ORCID 0000-0002-4176-4053).

[1] Stem Renovation LLC;

[2] Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine

[3] Don State Technical University

* trifonova@ns-rabies.ru

Funding: *The materials were prepared within the framework of the Russian Science Foundation 2025 "The use of mesenchymal stem cell secretion products to stimulate the physiological and reparative regeneration of the cardiorespiratory system in horses" (Agreement No. 25-16-00265 dated 05/29/2025).*

ABSTRACT

Today, regenerative medicine, traditionally reliant on stem cell therapy, is shifting toward a new type of biological regulation based on intercellular interactions via secreted substances known as the secretome. The use of mesenchymal stem cell (MSC) secretomes in regenerative therapy offers several advantages over living cells, including the ability to modify the secretome composition to achieve specific therapeutic goals. This study describes for the first time a procedure for obtaining equine mesenchymal stem cell secretomes using two distinct methods and conducts a comparative study of their biological activity in an in vitro wound model. Using ToupView 3.7 software, the wound width was measured in photographs at each of six points for each well after 0 hours of incubation (immediately after the scratch) and 24 hours of incubation. The average "scratch" width was calculated at 0:00 and 24:00. The ratio of the average "scratch" width after 24 hours of incubation to the average "scratch" width after 0:00 was then calculated. The wound closure rate relative to "K" was then calculated for each sample. The result was expressed as a percentage relative to the control. For the first time, the stability of the biological activity of the MSC secretome was assessed during storage at temperatures ranging from +4 to +8°C for two months. Based on the results of these studies, a promising candidate MSC secretome will be selected for further testing: first in laboratory animals to assess safety using various routes of administration, and then in horses to analyze its effects on cardiovascular and respiratory parameters in pathological conditions both at rest and after exercise.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Мезенхимальные стволовые клетки в процессах роста и репарации тканей/ Н.И. Калинина, В.Ю. Сысоева, К.А. Рубина, [и др.] // Acta Naturae. - 2011. - Т.3. - №4. - С. 32-39.

2. Mesenchymal stem cell secretome: toward cell-free therapeutic strategies in regenerative medicine / Vizoso F.J., Eiro N., Cid S. [et al.]. // Int J Mol Sci. - 2017. - 18(9). -

P. 1852.
3. MacDonald, E.S. The Potential of Mesenchymal Stem Cells to Treat Systemic Inflammation in Horses / E.S. MacDonald, J. G. Barrett // Frontiers in Veterinary Science. – 2020. – V. 6. – P. 507.
4. Лаврик, А. А. Иммуномодулирующие свойства мезенхимальных стволовых клеток: актуальные исследования / А. А. Лаврик, А. В. Трифонова, П. И. Токарь // Наука и инновации - современные концепции: сборник научных статей по итогам работы Международного научного форума, Москва, 21 сентября 2023 года. – Москва: Инфинити, 2023. – С. 83-88.
5. Регенеративная медицина для лечения лошадей с респираторными заболеваниями / А. В. Травкина, С. Ю. Концевая, А. А. Лаврик, С. Г. Али // Инновационные решения актуальных проблем в области ветеринарии : материалы Всероссийской (национальной) научно-практической конференции, Курск, 25–26 февраля 2021 года. – Курск: Курская государственная сельскохозяйственная академия имени И.И. Иванова, 2021. – С. 259-263.
6. Патент № 2662172 C2 Российская Федерация, МПК A61K 35/28. Способ получения регенеративного ветеринарного препарата на основе экстракта мезенхимальных стволовых клеток и кондиционной среды : № 2016148715 : заявл. 13.12.2016 : опубл. 24.07.2018 / А. А. Лаврик, Н. Э. Искендерова, С. Г. Али.
7. A high-throughput cell migration assay using scratch wound healing, a comparison of image-based readout methods / J.C.Yarrow, Z.E.Perlman, N.J. Westwood, T.J. Mitchison // BMC Biotechnol. - 2004. - V 9. - № 4. – P 21.

REFERENCES

1. Mesenchymal stem cells in the processes of tissue growth and repair/ N.I. Kalinina, V.Y. Sysoeva, K.A. Rubina, [et al.] // Acta Naturae. - 2011. - Vol.3. - No. 4. - pp. 32-39.
2. Mesenchymal stem cell secretome: towards cell-free therapeutic strategies in regenerative medicine / Vizoso F.J., Eiro N., Cid S. [et al.]. // Int J Mol Sci. - 2017. - 18 (9). - P. 1852.
3. MacDonald, E.S. The Potential of Mesenchymal Stem Cells to Treat Systemic Inflammation in Horses / E.S. MacDonald, J. G. Barrett // Frontiers in Veterinary Science. – 2020. – V. 6. – P. 507.
4. Lavrik, A. A. Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells: current research / A. A. Lavrik, A.V. Trifonova, P. I. Tokar // Science and innovation - modern concepts: a collection of scientific articles based on the results of the International Scientific Forum, Moscow, September 21, 2023. Moscow: Infiniti Publ., 2023, pp. 83-88.
5. Regenerative medicine for the treatment of horses with respiratory diseases / A.V. Travkina, S. Y. Kontseva, A. A. Lavrik, S. G. Ali // Innovative solutions to current problems in the field of veterinary medicine: proceedings of the All-Russian (national) scientific and practical Conference, Kursk, February 25-26, 2021. Kursk: Kursk State Agricultural Academy named after I.I. Ivanov, 2021, pp. 259-263.
6. Patent No. 2662172 C2 Russian Federation, IPC A61K 35/28. Method for obtaining a regenerative veterinary drug based on an extract of mesenchymal stem cells and a conditioned medium: No. 2016148715 : application 13.12.2016 : published 24.07.2018 / A. A. Lavrik, N. E. Iskenderova, S. G. Ali.
7. A high-throughput cell migration assay using scratch wound healing, a comparison of image-based readout methods / J.C.Yarrow, Z.E.Perlman, N.J. Westwood, T.J. Mitchison // BMC Biotechnol. - 2004. - V 9. - № 4. – P 21.

УДК: 619:591.81:577.21:636.2:001.608.1
DOI:10.52419/ISSN2072-2419.2025.4.411

ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КОРОВ В РАЗНЫЕ ВОЗРАСТНЫЕ ПЕРИОДЫ

Шкуратова И.А.* – член-корреспондент РАН, д-р ветеринар. наук, проф., гл. науч. сотр. отдела экологии и незаразной патологии животных (ORCID 0000-0003-0025-3545); **Дроздова Л.И**. – д-р ветеринар. наук, проф., вед. науч. сотр. отдела экологии и незаразной патологии животных (ORCID 0000-0001-9689-1781); **Петрова И.М.** – лаборант отдела геномных исследований и селекции животных (ORCID 0000-0002-4358-5219); **Хацко С.Л.** – лаборант отдела геномных исследований и селекции животных (ORCID 0000-0001-5921-6680); **Соколова О.В.** – д-р ветеринар. наук, вед. науч. сотр. отдела геномных исследований и селекции животных (ORCID 0000-0002-1169-4090); **Бытов М.В.** – мл. науч. сотр. отдела геномных исследований и селекции животных (ORCID 0000-0002-3622-3770)

ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук»

*shkuratova@bk.ru

Ключевые слова: *крупный рогатый скот, возрастные изменения, паренхиматозные органы, клеточное старение, изменения сосудистого русла.*

Key words: *cattle, gerontogenesis, age-related changes, parenchymatous organs, cellular aging, changes in the vascular bed.*

Финансирование: *Работа выполнена в рамках проекта РНФ № 23-16-00117 «Пространственная характеристика транскриптомных и метаболомных особенностей преждевременной структурно-функциональной дегенерации тканей органов сельскохозяйственных животных и птицы».*

Соблюдение этических стандартов: *Проведение исследований было одобрено Комитетом по институциональной этике ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» (протокол № 2 от 10.07.2025 г.)*

Конфликт интересов: *авторы работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.*

Поступила:15.06.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

В научной литературе представлено недостаточно данных о развитии возрастных структурно-функциональных изменений, происходящих в организме крупного рогатого скота. Изучение возрастных патоморфологических изменений, происходящих в организме крупного рогатого скота, позволит определить маркеры преждевременного старения органов и поможет разработать стратегию и тактику увеличения продуктивного долголетия коров. Цель исследования – изучить особенности структурно-функциональных изменений внутренних органов у половозрелого

крупного рогатого скота в возрастном аспекте. Материал получали на бойне от телки и выбракованных высокопродуктивных коров трех-, четырех-, пяти-, шести- и девятилетнего возраста. Для гистологических исследований отбирали кусочки органов, которые фиксировали в 10 % забуференном нейтральном формалине. Депарафинизированные срезы толщиной 3–4 мкм окрашивали красителями для гистологического исследования. Установлено, что структурно-дегенеративные изменения тканей органов начинают развиваться уже в трехлетнем возрасте, то есть после первого отела. В первую очередь, изменения затрагивают сердечно-сосудистую систему, на которую приходится максимальная нагрузка, вызванная лактацией. С увеличением возраста процессы структурно-функциональной дегенерации тканей нарастают: в сердечной мышце усиливается разрастание соединительной ткани, в печени наряду с жировой дистрофией, развиваются фиброзные изменения, в селезенке обнаруживается значительное отложение гемосидерина, что свидетельствует о преждевременной сенесценции клеток. В гистологических препаратах сердца коров 5–8-летнего возраста выявлен некроз волокон Пуркинье, что свидетельствует о нарушении проводящей системы сердца вследствие тяжелых дистрофических процессов. Для паренхиматозных органов характерны изменения сосудистого русла и активная коллагенизация стромы органов. Таким образом, клеточное старение, имеет схожие морфологические изменения и оказывает серьезное воздействие на тканевые структуры.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Геронтогенез или старение организма – общебиологический процесс, характеризующийся комплексом необратимых дегенеративных изменений органов и тканей, приводящий к нарушению структуры и функции внутренних органов. Скорость старения животных связана с такими факторами, как размер, плодовитость, интенсивность метаболизма и другие. Василевич Н. И. [1] сообщает, что для объяснения феномена старения предложено несколько теорий, которые отчасти противоречат, а отчасти дополняют друг друга. Их можно условно разделить на два больших класса: старение как процесс, запрограммированный в генах организмов, и старение как изнашивание организма в отсутствие какой-либо программы. В настоящее время наиболее признанными теориями старения являются генетическая и свободно-радикальная [2]. M. Wnuk с соавт. [3] определяют процесс старения как переменное, стохастическое и плейотропное явление, которое регулируется различными экологическими и генетическими факторами.

Триггерами клеточного старения могут быть наличие активных форм кислорода, укорочение теломер, дисфункция митохондрий. Стареющие клетки обычно имеют увеличенный размер и уплощенную форму по сравнению с делящимися. Часто сенесцентные клетки характеризуются выраженной вакуолизацией и иногда многоядерностью. Кроме того, наблюдается нарушение целостности ядерной оболочки [4].

В научной литературе представлено мало данных о развитии возрастных структурно-функциональных изменений, происходящих в организме крупного рогатого скота. Учитывая, что современная селекция направлена в основном на повышение молочной продуктивности, что, как правило, связано с метаболическим дисбалансом, необходимо выявлять критические патофизиологические процессы и морфофункциональные изменения, ведущие к преждевременной структурно-функциональной дегенерации тканей органов высокопродуктивных коров, что приводит к ранней выбраковке животных и сокращению сроков их продуктивного долголетия. Перевод молочного животноводства на промышленные технологии, также обусловливает сокращение продуктивной жизни коров до критических величин. Ценные племенные животные выбывают из стада, не окупая затраты на их выращивание [5, 6]. Удлинение сроков продуктивного использования коров – одна из актуальных задач при разведении крупного рогатого скота молочного

направления. В. А. Бекеневым [7] проведен подробный анализ работ по изучению влияния различных генотипических и паратипических факторов на продолжительность жизни и продуктивное долголетие, а также анализ исследований по прогнозированию и поиску современных способов их продления у сельскохозяйственных животных. Уменьшение продолжительности хозяйственного использования животных приводит к задержке прогресса в молочном скотоводстве, так как за короткий срок невозможно полностью реализовать производственно-экономический потенциал [8]. Мымрин В. С. с соавторами [9] считает, что резкое нарастание в молочных стадах инбридинга при увеличении молочной продуктивности, является важной причиной сокращения продуктивной жизни коров, что приводит к снижению экономической эффективности отрасли. По данным J. R. Wright с соавторами [10] продолжительность использования коров в США, равна 2,8 лактации. В Уральском регионе средняя продолжительность хозяйственного использования коров в стаде составляет 2,7 лактации [11].

Анализ данных литературы свидетельствует о том, что исследования, связанные с изучением возрастных изменений в организме, достаточно широко проводятся в гуманитарной медицине [12–14], но в ветеринарной медицине сельскохозяйственных животных такие данные ограничены. В связи с этим, изучение патоморфологических изменений, происходящих у крупного рогатого скота разного возраста, позволит определить маркеры преждевременного старения организма и поможет разработать стратегию и тактику увеличения продуктивного долголетия молочных коров.

Цель исследования – изучить особенности структурно-функциональных изменений внутренних органов у половозрелого крупного рогатого скота в возрастном аспекте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Материал получали на бойне от телки и выбракованных коров с продуктивностью 8000–10500 кг молока за лактацию трех-, четырех-, пяти-, шести- и девятилетнего возраста. Все животные были выбракованы по причинам травм и низкой продуктивности (менее 6000 кг молока за лактацию), животные содержались в хозяйствах благополучных по инфекционным заболеваниям. Для гистологических исследований отбирали кусочки сердца, печени, почек, селезенки, двенадцатиперстной кишки, поджелудочной железы. Кусочки органов толщиной не более 0,5 см фиксировали 10 % забуференным нейтральным формалином в соотношении 1:20 (по 3 образца каждой ткани). Образцы тканей для морфологического исследования после фиксации промывали в проточной воде, обезвоживали, затем пропитывали парафином и готовили парафиновые блоки. Изготавливали парафиновые срезы толщиной 3–4 мкм. Срезы депарафинизировали и окрашивали красителями для гистологического исследования.

Для проведения оценки общей морфологической картины и описания обзорных изменений была использована окраска гематоксилином и эозином. Для выявления чрезмерного разрастания соединительной ткани в местах разрушения паренхимы органа или его метаплазии использовали окрашивание по Маллори. PAS-Реакция проводилась для обнаружения накопления кислых мукополисахаридов. Для выявления железа в составе гемосидерина, свидетельствующего об усиленном распаде эритроцитов, проводили окрашивание срезов с помощью реакции Перлса (реакция берлинской лазури). Окрашивание ГОФП (гематоксилин – основной фуксин – пикриновая кислота) использовали для выявления повреждений миокарда. Морфологическая картина ишемических повреждений при окраске ГОФП заключается в окрашивании основным фуксином саркоплазмы ишемизированных кардиомиоцитов в тёмно-красный цвет, в отличие от интактных участков жёлто-коричневого цвета.

Проведено гистохимическое исследо-

вание тканей почек и двенадцатиперстной кишки коровы шестилетнего возраста с целью выявления в тканях одного из маркеров сенесцентных клеток – β-галактозидазы по следующему протоколу:

Образцы тканей в объеме не превышающие 1см^3 фиксировали в сахарозе, растворенной в PBS буфере (повышающий градиент сахарозы в PBS от 10 % до 30 %.);

С помощью криотома изготавливали замороженные срезы толщиной 20–30 мкм;

Срезы помещали на стекла с покрытием superfrost и обводили гидрофобным карандашом;

Проводили окрашивание срезов раствором β-галактозидазы («Aging Cell β-galactosidase Staining Kit», Servicebio, Китай) в соответствии с рекомендациями производителя;

Срезы дважды промывали в буфере TBST с pH=6, затем в дистиллированной воде;

Проводили докраску ядер с помощью 1 % водного квасцового кармина;

Срезы дегидратировали, просветляли, заключали под покровные стекла.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

С целью изучения влияния лактационной нагрузки на морфофункциональное состояние внутренних органов были взяты их кусочки от телок и коров, начиная с трехлетнего возраста (первая лактация) до 9-летнего возраста (пятая лактация).

У телки двухлетнего возраста морфологический анализ тканей сердца выявил картину развивающегося миокардита: разрастание соединительной ткани, полиморфноклеточная инфильтрация между мышечными волокнами, неравномерная их окраска (см. рисунок 1.1). В печени изменения начинают затрагивать паренхиму: отмечается жировая дистрофия гепатоцитов (см. рисунок 1.2). Усиление рисунка ретикулярных структур и разрастание капсулы селезенки свидетельствует об ее индурации, а пролиферация элементов сосудистой стенки – о возрастных изменениях микроциркуляторного русла (см. рисунок 1.3). В двенадцатиперстной кишке наблюдается утолщение ворсинок и атрофия железистого аппарата, а также полиморфноклеточная инфильтрация. В почках отмечается нарушение микроциркуляторного русла, а также дистрофические процессы в паренхиме органа в виде уплотнения капиллярной сети клубочка, увеличения мочевого пространства и формирования кистозных полостей (см. рисунок 1.4).

В организме коров трех- и четырехлетнего возраста начинают активно развиваться процессы структурно-функциональной деградации тканей. Наблюдается усиленная коллагенизация стромы паренхиматозных органов и глубокие изменения со стороны микроциркуляторного русла. Так, в сердечной мышце наряду с ишемическими изменениями миокарда, обнаружено значительное разрастание соединительной ткани (см. рисунки 2.1, 2.2). По всей паренхиме печени видны фиброзные изменения, свидетельствующие о цирротическом процессе. Это подтверждается и изменениями микроциркуляторного русла: наличием очагов кровоизлияний, связанных с повышением проницаемости сосудистых мембран, накоплением в стенке сосудов кислых мукополисахаридов, огрубением и утолщением сосудистой стенки вплоть до обтурации просвета кровеносных сосудов. Наблюдается некроз и жировая дистрофия гепатоцитов (см. рисунок 2.3). Ретикулярная строма селезенки также претерпевает процессы коллагенизации, что хорошо просматривается как в капсуле, так и трабекулах. В красной пульпе отмечено значительное отложение гемосидерина и липофусцина, что свидетельствует о значительном разрушении эритроцитов и преждевременном старении организма (см. рисунок 2.4). В двенадцатиперстной кишке наряду с выраженным воспалительным процессом, проявляющимся в разрастании соединительной ткани, наличии лимфоидноклеточной инфильтрации, гиперсекреции желез, имеет место нарушение проницаемости сосудов в виде диапедеза эритроцитов и отложении гемосидерина (см. рисунок 2.5). В почках

процессы дегенеративного характера проявляются в развитии интракапиллярного гломерулонефрита и выраженной белковой дистрофии эпителия извитых канальцев (см. рисунок 2.6).

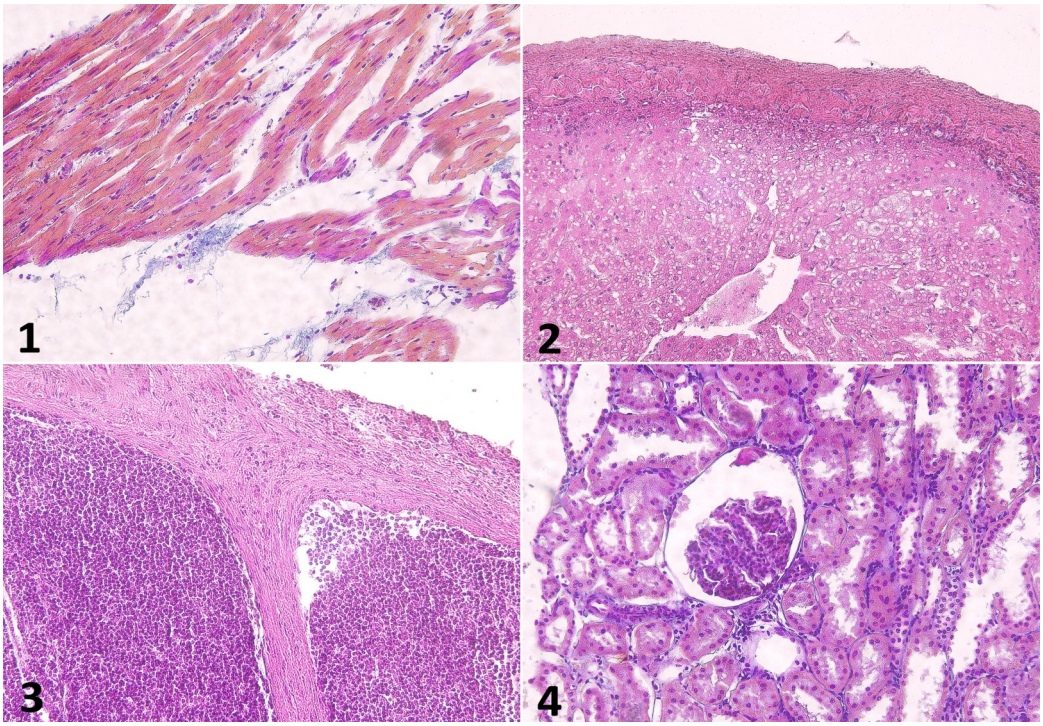


Рисунок 1 – Комплекс морфологических изменений в тканях органов телки в возрасте 2 лет: 1 – Развитие миокардита: полиморфноклеточная инфильтрация, неравномерная окраска мышечных волокон, окрашивание по Маллори, ув. 200х; 2 –Утолщение капсулы печени и выраженная жировая дистрофия гепатоцитов, окрашивание гематоксилином и эозином, ув. 200х; 3 –Утолщение капсулы и огрубение трабекул селезенки, окрашивание гематоксилином и эозином, ув. 200х; 4 – Увеличение мочевого пространства, уплотнение капиллярной сети клубочка и лимфоидноклеточный инфильтрат между извитыми канальцами первого порядка, окрашивание по Маллори, ув. 200х.

У коров в возрасте 5, 6 и 9 лет установлены однотипные изменения в сердце в виде тяжелых дистрофических и некротических процессов – дезорганизация мышечных волокон и очаговый некроз кардиомиоцитов. У погибающих кардиомиоцитов отсутствуют ядра, выражена исчерченность, что является следствием импрегнации мышечных волокон ввиду нарушения обменных процессов. В проводящей системе также развивается некроз волокон Пуркинье, происходит нарушение микроциркуляторного русла и коллагенизация соединительнотканных структур, а также полиморфноклеточная инфильтрация, свидетельствующая о развивающемся миокардите (см. рисунок 3.1). У некоторых животных в сердце обнаружены саркоцисты, расположенные в мышечных волокнах. Однако, описанные изменения нельзя полностью свести к паразитарной инвазии, поскольку у незараженных особей эти изменения также имели место, что говорит об ассоциации этих процессов с возрастом животных.

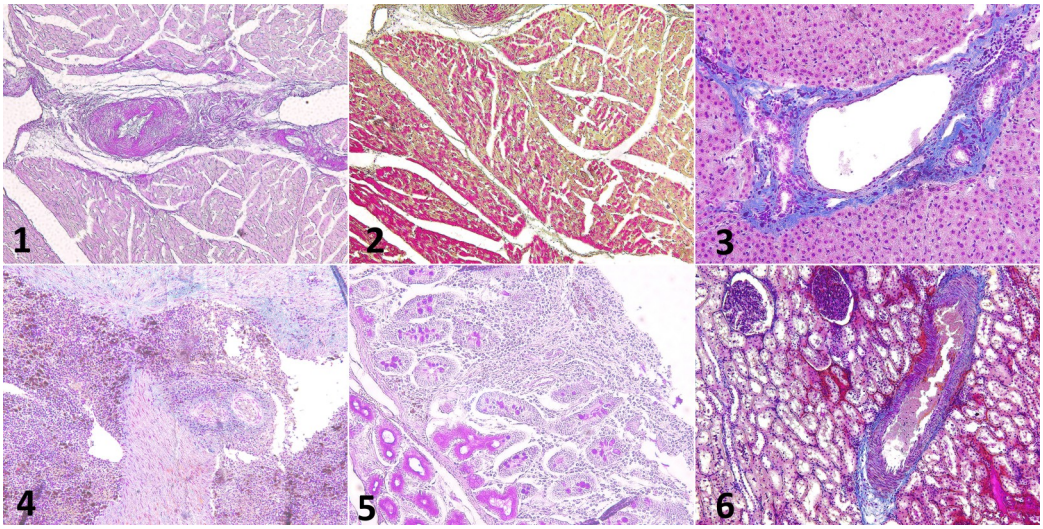


Рисунок 2 – Комплекс морфологических изменений в тканях органов коров в возрасте 3, 4 лет: 1 – Разрастание соединительнотканных структур, периваскулярный отек и утолщение стенок артерий сердца, окрашивание гематоксилином и эозином, ув. 100х; 2 – Мышечные волокна (красные) в состоянии ишемии, окрашивание ГОФП, ув. 100х; 3 – Разрастание соединительнотканных структур и нарушение кровообращения в системе междольковых сосудов, окрашивание по Маллори, ув. 200х; 4 – Процессы коллагенизации в трабекулах селезенки, дезорганизация стенки трабекулярных артерий, окрашивание по Маллори, ув. 100х; 5 – Участок с десквамацией эпителия в двенадцатиперстной кишке, PAS-реакция, ув. 200х; 6 – Участок периваскулярного разрастания соединительной ткани в корковом слое почки, окрашивание по Маллори, ув. 200х.

Морфологический анализ печени коров 5–6-летнего возраста выявил наличие зернистой дистрофии, активацию компенсаторных механизмов, проявляющихся наличием двуядерных гепатоцитов. Процессы деструктивного характера носят слабо выраженный характер, наблюдаются отдельные очаги жировой дистрофии, характерные для данной возрастной группы. Выявленные глубокие изменения сосудистого русла (лимфостаз, утолщение стенок артерий), а также разрастание соединительнотканной стромы и ее коллагенизация, свидетельствует о начале продуктивного воспаления (см. рисунок 3.2). У более возрастных животных (9 лет) в печени отмечено отложение гемосидерина в клетках Купфера, что свидетельствует об анемии организма и нарушении ферментативной функции селезенки. Это коррелирует с постепенной индурацией селезенки животных в возрасте от 5 до 9 лет. В стенке кровеносных сосудов развивается активный пролиферативный процесс. В красной пульпе в сидерофагах откладывается гемосидерин (см. рисунок 3.3).

В двенадцатиперстной кишке отмечается воспалительная реакция в виде плотной полиморфноклеточной инфильтрации, участками десквамация эпителия. Кроме того, наблюдается отложение гемосидерина, что указывает на повышение проницаемости стенки микроциркуляторного русла (см. рисунок 3.4).

В поджелудочной железе дегенеративные изменения обнаружены у коров 6- и 9-летнего возраста. Происходит разрастание соединительной ткани, усиливаются пролиферативные процессы в стенке артерий, что ведет к расширению просвета сосудов лимфатической системы. Отмечена атрофия долек поджелудочной железы, появляются изолированные ост-

ровки панкреацитов, связанное с разрастанием соединительнотканной стромы, что свидетельствует о начале атрофического процесса в эндокринной части железы (см. рисунок 3.5). В почках наблюдается расширение почечного пространства, расширение просвета почечных канальцев и резкое уменьшение объема нефроцитов. Изменения затрагивают микроциркуляторное русло органа. Также в почке установлена деформация клубочков, интракапиллярный гломерулит и вакуольная дистрофия эпителия канальцев, а на уровне мозгового вещества развивается нефросклероз, более выраженный у коровы 9 лет (см. рисунок 3.6).

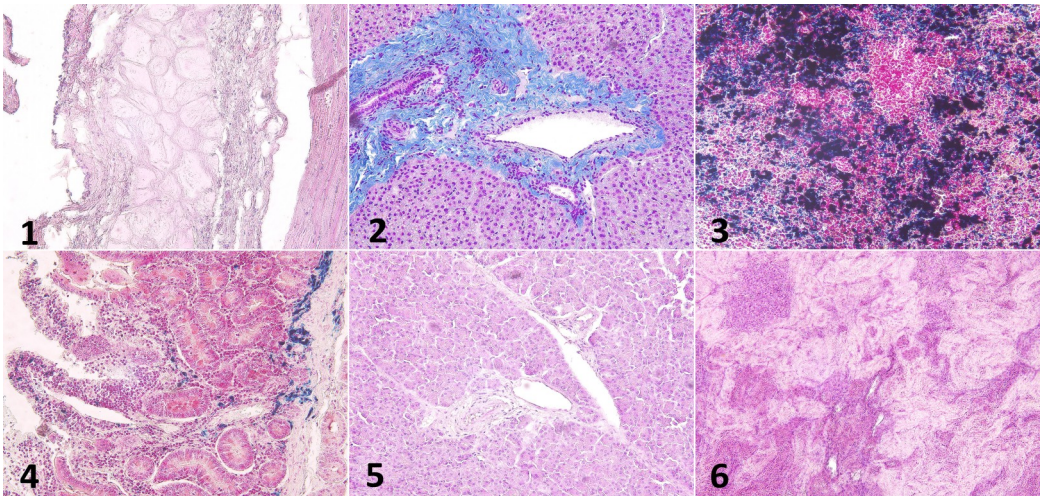


Рисунок 3 – Комплекс морфологических изменений в тканях органов коров в возрасте 5,6 и 9 лет: 1 – Дистрофические и некротические процессы в волокнах Пуркинье в сердце коровы в возрасте 5 лет, окрашивание гематоксилином и эозином, ув. 200х; 2 – Разрастание и коллагенизация соединительной ткани в печени коровы в возрасте 5 лет, окрашивание по Маллолри, ув. 200х; 3 – Интенсивное отложение гемосидерина в сидерофагах красной пульпы селезенки коровы в возрасте 9 лет, окрашивание по Перлсу, ув. 200х; 4 – Активное отложение гемосидерина в ворсинках и периваскулярно в мышечном слое слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки коровы в возрасте 9 лет, окрашивание по Перлсу, ув. 200х; 5 – Разрастание соединительной ткани, расширение просвета сосудов лимфатической системы и атрофия долек поджелудочной железы, окрашивание гематоксилином и эозином, ув. 200х; 6 – Обширные очаги нефросклероза в почке коровы в возрасте 9 лет, окрашивание гематоксилином и эозином, ув. 200х.

При исследовании двенадцатиперстной кишки коровы шестилетнего возраста отмечена интенсивная положительная реакция на β-галактозидазу на уровне слизистой оболочки кишечника. Включения пигмента синего цвета обнаруживаются в эпителии ворсинок и железистого аппарата (см. рисунок 4.1). В свою очередь, данные морфологического анализа показывают сильное катаральное воспаление с гиперсекрецией желез (см. рисунок 4.2).

В почках при этом определяется положительная реакция на β-галактозидазу как в корковом, так и в мозговом веществе, преимущественно в эпителии канальцев, что указывает на их деструкцию (см. рисунок 5.1). При этом методами классической гистологии в почках определяются дегенеративные изменения (деформация клубочков) и дистрофия нефроцитов (см. рисунок 5.2).

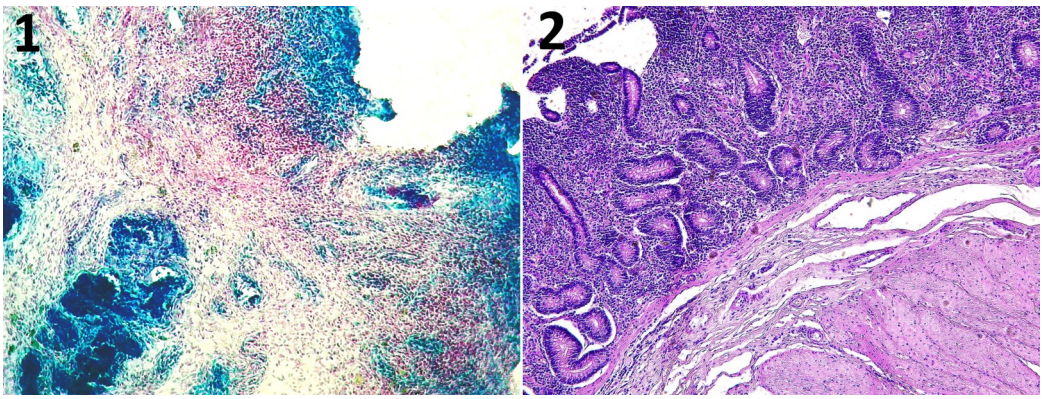


Рисунок 4 – Двенадцатиперстная кишка коровы возраста 6 лет: 1 – Окраска на активность β-галактозидазы, ув. 100х; 2 – Окраска по Маллори, ув. 100х.

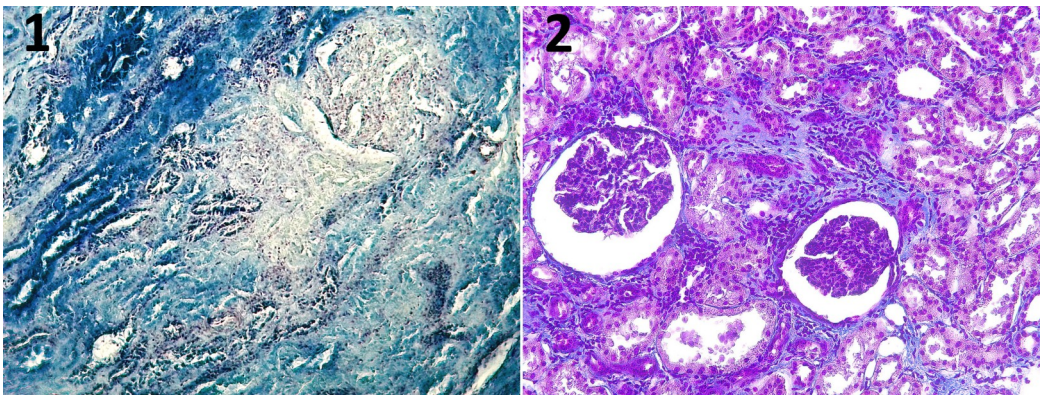


Рисунок 5 – Почка коровы возраста 6 лет: 1 – Окраска на активность β-галактозидазы, ув. 200х; 2 – Окраска по Маллори, ув. 200х.

Проведённые исследования показали, что структурно-дегенеративные изменения тканей органов у крупного рогатого скота начинают развиваться уже в трехлетнем возрасте, то есть после первого отела. В первую очередь, изменения затрагивают сердечно-сосудистую систему, на которую приходится максимальная нагрузка, вызванная лактацией. В сердечной мышце начинается разрастание соединительной ткани, в селезенке и почках выражено нарушение микроциркуляторного русла. С увеличением возраста процессы структурно-функциональной дегенерации тканей нарастают: в сердечной мышце усиливается разрастание соединительной ткани, в печени наряду с жировой дистрофией, развиваются фиброзные изменения, в селезенке обнаруживается значительное отложение гемосидерина и липофусцина, что свидетельствует о преждевременной сенесценции клеток. Trizno M. N., Kurtusunov B. T., Trizno E. V., et al. (2024) в опытах на крысах установили, что наличие липофусцина в печени и почках часто сочеталось с патоморфологическими изменениями ткани в виде фиброза, склерозирования и других признаков дегенерации. Аналогичную картину мы наблюдали у крупного рогатого скота, начиная с четырехлетнего возраста и старше. Лактация у коров сопровождается метаболическим напряжением, развитием оксидативного стресса, что является триггером дегенеративных процессов в сердечной мышце и паренхи-

матозных органах. Сердце, печень и почки являются основными гомеостатическими органами и играют ключевую роль в метаболизме, удалении продуктов распада, устойчивости основных физиологических параметров организма. Интенсивная лактация приводит к функциональной нагрузке органов, что может сопровождаться отложением липофусцина в клетках, снижением способности поддерживать гомеостаз с возрастом [17, 18]. В гистологических препаратах сердца коров 5–8-летнего возраста выявлен некроз волокон Пуркинье, что свидетельствует о нарушении проводящей системы сердца вследствие тяжелых дистрофических процессов. Для паренхиматозных органов (печени, почек, селезенки) характерно изменения сосудистого русла (лимфостаз, утолщение стенок артерий) и активная коллагенизация стромы органов. Отложение в красной пульпе селезенки липофусцина, является универсальным маркером старения организма [14]. Проведенные исследования подтверждают тот факт, что клеточное старение, имеет схожие морфологические изменения со стороны подверженных ему клеток и оказывает серьезное воздействие на тканевые структуры [15].

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

На основании проведенных исследований можно заключить, что у высокопродуктивных коров структурно-дегенеративные изменения органов, свидетельствующие о преждевременном старении (истощении), развиваются во всех исследованных органах, начиная с трехлетнего возраста (после первого отела). В процессе геронтогенеза эти изменения носят более выраженный характер и затрагивают, прежде всего, функционально ведущие части органов – паренхиму печени, почек, миокарда. Углубление знаний о процессах возрастной структурно-функциональной дегенерации тканей органов у высокопродуктивных коров позволит разработать универсальные патогенетические подходы для увеличения их продуктивного долголетия.

CHARACTERISTICS OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHANGES IN THE INTERNAL ORGANS OF COWS OF DIFFERENT AGE

Shkuratova I.A.* – Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Veterinary Medicine, Professor, Chief Researcher of the Department of Ecology and Non-Infectious Animal Pathology (ORCID 0000-0003-0025-3545); **Drozdova L.I.** – Doctor of Veterinary Medicine, Professor, Leading Researcher of the Department of Ecology and Non-Infectious Animal Pathology (ORCID 0000-0001-9689-1781); **Petrova I.M.** – Laboratory Assistant of the Department of Genomic Research and Animal Breeding (ORCID 0000-0002-4358-5219); **Khatsko S.L.** – Laboratory Assistant of the Department of Genomic Research and Animal Breeding (ORCID 0000-0001-5921-6680); **Sokolova O.V.** – Doctor of Veterinary Medicine, Professor, Leading Researcher of the Department of Genomic Research and Animal Breeding (ORCID 0000-0002-1169-4090); **Bytov M.V.** – Junior Researcher of the Department of Genomic Research and Animal Breeding (ORCID 0000-0002-3622-3770)

Ural Federal Agrarian Scientific Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

*shkuratova@bk.ru

Funding: *The study was carried out with funds from the Russian Science Foundation grant № 23-16-00117 "Spatial characteristics of transcriptomic and metabolomic features of premature structural and functional degeneration of tissues of organs of farm animals and poultry", https://rscf.ru/project/23-16-00117*

Compliance with ethical standards: *The research was approved by the Institutional Ethics Committee of the Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (protocol No. 2 dated July 10, 2025).*

Conflict of interest: *The authors of this work declare that they have no conflict of interest.*

ABSTRACT

The scientific literature provides insufficient data on the development of age-related structural and functional changes in cattle. Studying age-related pathomorphological changes in cattle will help identify markers of premature organ aging and develop strategies and tactics for increasing the productive longevity of cows. The aim of this study was to examine the characteristics of structural and functional changes in the internal organs of mature cattle across age-related factors. Material was obtained from heifers and culled high-yielding cows aged three, four, five, six, and nine years. Organ samples were collected for histological examination and fixed in 10% buffered neutral formalin. Deparaffinized sections 3–4 μm thick were stained with dyes for histological examination. It was established that structural and degenerative changes in organ tissues begin to develop as early as three years of age, that is, after the first calving. The cardiovascular system, which bears the greatest strain from lactation, is primarily affected by these changes. With increasing age, structural and functional tissue degeneration processes intensify: connective tissue proliferation intensifies in the heart muscle, fibrous changes develop in the liver alongside fatty degeneration, and significant hemosederin deposition is detected in the spleen, indicating premature cell senescence. Histological specimens of the hearts of 5- to 8-year-old cows revealed necrosis of the Purkinje fibers, indicating disruption of the cardiac conduction system due to severe degenerative processes. Parenchymatous organs are characterized by changes in the vascular bed and active collagenization of the organ stroma. Thus, cellular aging produces similar morphological changes and has a significant impact on tissue structures.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Василевич, Н. И. Знать врага в лицо: молекулярные маркеры старения / Н. И. Василевич // Лаборатория и производство. – 2020. – № 3-4(13). – С. 118-128. – DOI 10.32757/2619-0923.2020.3-4.13.118.128.

2. Libertini, G. Empirical evidence for various evolutionary hypotheses on species demonstrating increasing mortality with increasing chronological age in the wild / G. Libertini // The Scientific World Journal. – 2008. – Vol. 8. – P. 182-193. – DOI 10.1100/tsw.2008.36.

3. Wnuk, M. Aging process in chromatin of animals / M. Wnuk, M. Bugno-Poniewierska, A. Lewińska, B. Oklejewicz, T. Zabek, E. Slota // Annals of Animal Science. – 2012. – Vol. 12. – No. 3. – P. 301-309. – DOI 10.2478/v10220-012-0025-3.

4. Cormenier, J. The ATF6α arm of the Unfolded Protein Response mediates replicative senescence in human fibroblasts through a COX2/prostaglandin E2 intracrine pathway / J. Cormenier, N. Martin, J. Deslé, C. Salazar-Cardozo, A. Pourtier, C. Abbadie, O. Pluquet // Mechanisms of ageing and development. – 2018. – Vol. 170. P. 82-91. – DOI: 10.1016/j.mad.2017.08.003.

5. Басонов, О. А. Зависимость продолжительности хозяйственного использования коров от уровня молочной продуктивности / О. А. Басонов, О. Е. Павлова // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2017. – № 4 (40). – С. 103-107.

6. Овчинникова, Л. Ю. Продуктивное долголетие коров высокопродуктивного стада в зависимости от степеней инбридинга / Л. Ю. Овчинникова, К. К. Мулявка // АПК России. – 2023. – Т. 30. – № 4. – С. 582-587. – DOI 10.55934/2587-8824-2023-30-4-582-587.

7. Бекенев, В. А. Продуктивное долголетие животных, способы его прогнозирования и продления / В. А. Бекенев // Сельскохозяйственная биология. – 2019. – Т. 54. – № 4. – С. 655-666. – DOI 10.15389/agrobiology.2019.4.655rus.

8. Некрасов, А. Сроки хозяйственного использования коров можно увеличить / А. Некрасов, Н. Попов // Животноводство России. – 2021. – № 2. – С. 55-59. – DOI 10.25701/ZZR.2020.59.23.013. Режим доступа: https://static.zzr.ru/public/article/pdf/zzr-2021-02-015.pdf

9. Мымрин, В. С. Племенное животноводство Среднего Урала (от истоков до

наших дней): монография / В. С. Мымрин, С. В. Мымрин, О. Г. Лоретц и др.: отв. ред. В. С. Мымрин. – Екатеринбург: Издательство Уральского ГАУ, 2023 – 156 с.
10. Wright, J. R. Genetic evaluation of dairy cow livability / J. R. Wright, P. M. VanRaden // Journal of Animal Science. – 2016. – Vol. 94. – P. 178. – DOI 10.2527/jam2016-0368.
11. Анализ результатов оценки племенной ценности животных в сельскохозяйственных организациях Челябинской области – за 2021 год // Мымрин С. В. и др. Челябинск, 2022. – 44 с.
12. He, S. Senescence in health and disease / S. He, N. E. Sharpless // Cell. – 2017. – Vol. 169. – No. 6. – P. 1000-1011. – DOI10.1016/j.cell.2017.05.015.
13. Campisi, J. Cellular senescence: a link between cancer and age-related degenerative disease? / J. Campisi, J. K. Andersen, P. Kapahi, S. Melov // Seminars in cancer biology. – 2011. – Vol. 21. – No. 6. – P. 354-359. – DOI: 10.1016/j.semcancer.2011.09.001.
14. Libertini, G. Элиминация сенесцентных клеток: перспективы с точки зрения теории теломер–субтеломер. ОБЗОР / G. Libertini, N. Ferrara, G. Rengo, G. Corbi // БИОХИМИЯ. – 2018. – Т. 83. – № 12. – С. 1812-1826.
15. Тризно, М. Н. Выявление клеток висцеральных органов, гипорезистентных к липофусциногенезу / М. Н. Тризно, Б. Т. Куртусунов, Е. В. Тризно, М.В.Мажитова // Современные проблемы науки и образования. – 2024. – № 3. – DOI 10.17513/spno.33499. Режим доступа: https://science-education.ru/ru/article/view?id=33499
16. Клеточное старение: молекулярный и морфологический аспекты / А. В. Игрункова, Я. М. Валиева, А. М. Калиниченко, А. В. Курков, К. Ю. Попова, Д. Ю. Шестаков, В. А. Заборова // Молекулярная медицина. – 2022. – Т. 20. – № 4. – С. 16-21. – DOI 10.29296/24999490-2022-04-03.
17. He, Y. Progress in the study of aging marker criteria in human populations / Y. He, Z. Li, Y. Niu, Y. Duan, Q. Wang, X. Liu, Z. Dong, Y. Zheng, Y. Chen, Y. Wang, D. Zhao, X. Sun, G. Cai, Z. Feng, W. Zhang, X. Chen // Frontiers in public health. – 2024. – Vol. 12. – Article ID: 1305303. – DOI 10.3389/fpubh.2024.1305303.

REFERENCES

1. Vasilevich, N. I. Knowing the enemy: molecular markers of aging / N. I. Vasilevich // Laboratory and production. 2020:3-4 (13):118-128. – DOI 10.32757/2619-0923.2020.3-4.13.118.128. (In Russ.)
2. Libertini, G. Empirical evidence for various evolutionary hypotheses on species demonstrating increasing mortality with increasing chronological age in the wild / G. Libertini // The Scientific World Journal. 2008:8:182-193. – DOI 10.1100/tsw.2008.36.
3. Wnuk, M. Aging process in chromatin of animals / M. Wnuk, M. Bugno-Poniewierska, A. Lewińska, B. Oklejewicz, T. Zabek, E. Slota // Annals of Animal Science. 2012:12(3):301-309. – DOI 10.2478/v10220-012-0025-3.
4. Cormenier, J. The ATF6α arm of the Unfolded Protein Response mediates replicative senescence in human fibroblasts through a COX2/prostaglandin E2 intracrine pathway / J. Cormenier, N. Martin, J. Deslé, C. Salazar-Cardozo, A. Pourtier, C. Abbadie, O. Pluquet // Mechanisms of Ageing and Development. 2018:170:82-91. – DOI 10.1016/j.mad.2017.08.003.
5. Basonov, O. A. Duration of economic use of cows depending on their milk productivity level / O. A. Basonov, O. E. Pavlova // Vestnik of Ulyanovsk state agricultural academy. 2014:(40):103-107. (In Russ.)
6. Ovchinnikova, L. Yu., Productive longevity of cows of a highly productive herd depending on the degree of inbreeding / L. Yu. Ovchinnikova, K. K. Mulyavka // Agro-industrial complex of Russia. 2023:30 (4):582-587. – DOI 10.55934/2587-8824-2023-30-4-582-587. (In Russ.)
7. Bekenev, V. A. Productive longevity of animals, methods of its prediction and extension / V. A. Bekenev // Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]. 2019:54(4):655-666. – DOI 10.15389/

agrobiology.2019.4.655rus. (In Russ.)
8. Nekrasov, A. The period of economic use of cows can be increased / A. Nekrasov, N. Popov // Animal Husbandry of Russia. 2021: (2):55-59. – DOI 10.25701/ ZZR.2020.59.23.013. (In Russ.)
9. Mymrin, V. S. Livestock breeding in the Middle Urals (from its origins to the present day): monograph / V. S. Mymrin, S. V. Mymrin, O. G. Loretts, et al. // Ekaterinburg: Publishing House of the Ural State Agrarian University, 2023 – 156 p. (In Russ.)
10. Wright, J. R. Genetic evaluation of dairy cow livability / J. R. Wright, P. M. VanRaden // Journal of Animal Science. 2016:94:178. – DOI 10.2527/jam2016-0368.
11. Analysis of the results of assessing the breeding value of animals in agricultural organizations of the Chelyabinsk region – for 2021 // Mymrin S. V. et al. Chelyabinsk, 2022. – 44 p. (In Russ.)
12. He, S. Senescence in health and disease / S. He, N. E. Sharpless // Cell. 2017:169 (6):1000-1011. – DOI10.1016/ j.cell.2017.05.015.
13. Campisi, J. Cellular senescence: a link between cancer and age-related degenerative disease? / J. Campisi, J. K. Andersen, P. Kapahi, S. Melov // Seminars in cancer biology. 2011:21(6):354-359. – DOI 10.1016/ j.semcancer.2011.09.001.
14. Libertini, G. Elimination of Senescent Cells: Prospects According to the Subtelomere-Telomere Theory. / G. Libertini, N. Ferrara, G. Rengo, G. Corbi // Biochemistry [Biokhimiia]. 2018:83(12):1812-1826. – DOI: 10.1134/S0006297918120064. (In Russ.)
15. Trizno, M. N. Identification of visceral organ cells that are hyporesistant to lipofuscinogenesis / M. N. Trizno, B. T. Kurtusunov, E. V. Trizno, M. V. Mazhitova // Modern problems of science and education. 2024:(3) – DOI 10.17513/spno.33499. (In Russ.)
16. Igrunkova, A. V. Cellular senescence: molecular biology and morphology / A. V. Igrunkova, Y. M. Valieva, A. M. Kalinichenko, A. V. Kurkov, K. Yu. Popova, D. Yu. Shestakov, V. A. Zaborova // Molekulyarnaya Meditsina. 2022:20(4):16-21. – DOI 10.29296/24999490-2022-04-03. (In Russ.)
17. He Y, Li Z, Niu Y, et al. Progress in the study of aging marker criteria in human populations. Frontiers in Public Health. 2024:12:1305303. – DOI 10.3389/ fpubh.2024.1305303.

УДК: 636.294:591.471
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.423

КРАНИОМЕТРИЧЕСКПЯ ФЕНОГЕОГРАФИЯ ЛЕСНЫХ СЕВЕРНЫХ ОЛЕНЕЙ СИБИРИ И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА

Южаков А.А. – д-р с.-х. наук, гл. науч. сотр. отд. животноводства и рационального природопользования Арктики (ORCID 0000-0002-3584-8381); **Мухачев А.Д.** – д-р с.-х. наук, гл. науч. сотр. отд. животноводства и рационального природопользования Арктики (ORCID 0000-0002-3584-8392); **Мусидрай А.А.** – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. отдел животноводства и рационального природопользования Арктики (ORCID 0000-0002-0079-9938); **Лайшев К.А.** * – д-р ветеринар. наук, гл. науч. сотр. отдел животноводства и рационального природопользования Арктики (ORCID 0000-0003-2490-6942)

ФГБУН Санкт-Петербургский федеральный исследовательский центр РАН

* layshev@mail.ru

Ключевые слова: Сибирь, Дальний Восток, северный олень, лесная зона, краниометрия, породная идентификация.

Key words: Siberia, Far East, reindeer, forest zone, craniometry, breed identification.

Финансирование: *Материалы подготовлены в рамках Государственного задания по теме FFZF-2025-0013 «Усовершенствовать научно-технологические основы производства высококачественной продукции растениеводства и северного оленеводства с использованием принципов адаптивности, природоподобия и экологической безопасности в условиях Северо-Запада России и Арктической зоны РФ».*

Поступила: 16.05.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Исследования проводились с целью установить породную идентификацию домашних северных оленей лесной зоны Сибири и Дальнего Востока. Проведен сравнительный анализ краниометрических данных по 20 промерам и 15 индексам. Было установлено, что, краниометрические характеристики оленей данного лесного мегаэкотипа достоверно отличаются от животных других регионов оленеводства большей величиной, а результаты индексов свидетельствуют о его относительно меньшем развитии в ширину, сужения в области орбит и скуловых дуг, узости носовых костей, удлиненности лицевой части и лобных костей, более высоком роструме и более мощном развитии затылочной области. Анализ краниометрических данных характеризует общность оленей лесной зоны Сибири и Дальнего Востока, что указывает на их филогенетическую связь. Самые крупные размеры черепа характерны для оленей Эвенкии, Республики Тыва и Хабаровского края. Половой диморфизм в размерах черепов хорошо выражен. Так у самцов в Эвенкии (Байкитский район) наибольшая длина и наибольшая ширина черепа составляли соответственно в среднем - 422,90 мм и 176,50 мм, в Тыве (Тоджинский район) - 410,00 мм и 179,75 мм, в Хабаровском крае (Аяно-Майский район) - 414,60 мм и 180,00 мм. Половой диморфизм в размерах черепов хорошо выражен, поэтому у самок аналогичные промеры заметно ниже. Домашние олени остальных районов регионов хотя и несколько уступают приведенным, но незначительно, что позволяет

отнести исследуемые популяции к одной породе – эвенкийской, а краниометрические показатели применить при использовании нейронных сетей в идентификации оленей.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Северные олени (Rangifer tarandus) как дикой, так и домашней форм, в зависимости от постоянной географической локации, относятся к тундровому или лесному мегаэкотипам. Есть и промежуточные экотипы, поэтому для отнесения животных к определенной популяции применяют несколько методов идентификации. Важную роль в изучении отдельных групп и особей млекопитающих играют краниометрические исследования, особенно при установлении степени систематического родства между отдельными группами животных, а также при выяснении хода эволюции и изменчивости. Об этом писал еще в 1937 году известный биолог И.И. Соколов, который считал краниометрические исследования основой систематики как диких, так и домашних северных оленей [1]. В связи с активным внедрением идентификации животных методами молекулярно-генетических исследований, применение краниометрии заметно снизилось. Но не исчезло, поскольку знание фенотипических особенностей домашних оленей имеют решающее значение при характеристике как основных, так и дополняющих характеристик пород и популяций северных оленей [2]. Краниометрические показатели являются достаточно константными для сравнительных исследований как исторически описанных, так и современных параметров изучаемых животных. Фенотипические показатели, как нами установлено, при известной степени достоверности корреляций, могут апроксимировать ряд генотипических характеристик особи [3]. Результаты сравнительного анализа между фенотипическими и генетическими корреляционными матрицами продемонстрировали высокую степень согласованности. Было показано, что для селекции северных оленей по живой массе и линейным размерам тела фенотипические корреляции потенциально могут использоваться в качестве косвенного показателя генетических корреляций. Сравнительное исследование фенотипа лесных оленей за длительный исторический период в 50 лет не обнаружил статистически достоверных различий по большинству признаков, что дает основание предполагать, что за этот период не произошло и значимых изменений в генотипе оленей [4].

Цель исследований – установить породную идентификацию домашних северных оленей лесной зоны Сибири и Дальнего Востока.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Рассматриваемый нами регион лесной зоны Сибири и Дальнего Востока занимает территорию в административных границах Эвенкийского муниципального района Красноярского края, Республик Тыва, Бурятия, Саха (Якутия), Иркутской, Амурской и Сахалинской областей, Забайкальского и Хабаровского края.

Для краниометрической характеристики домашних северных оленей, с целью установления их породной принадлежности, из всех основных оленеводческих районов региона были собраны черепа взрослых самцов и самок и измерены согласно методике И.И. Соколова [1]. Для анализа и сравнения использовались как собственные исследования, так и источники по указанной тематике. На каждом черепе бралось 20 промеров:

Промер № 1. Наибольшая длина черепа – от задней точки затылочного гребня до передних концов межчелюстных костей.

Промер № 2. Основная (базилярная) длина черепа – от нижнего края затылочного отверстия (*basion*) до передних межчелюстных костей.

Промер № 5. Анатомическая лицевая ось – от середины линии, соединяющей задние края орбит, до передних межчелюстных костей.

Промер № 6. Орбитно-лицевая длина лицевой части черепа – от переднего края межчелюстных костей до переднего края орбиты на нижнем слезно-орбитном шве.

Промер № 10. Анатомическая мозговая ось – от *basion* до линии, соединяющей задние края орбит по средней линии.

Промер № 12. Орбитно-мозговая длина – от *basion* до переднего края орбиты на нижнем слезно-орбитном шве.

Промер № 15. Наибольшая ширина черепа – расстояние между наиболее выдающимися наружными краями глазниц (она же - наибольшая ширина лобных костей).

Промер № 17. Ширина черепа на уровне задних концов верхних отростков межчелюстных костей.

Промер № 21. Наименьшая ширина лба – в самом узком месте между рогами и глазницами.

Промер № 22. Ширина черепа в скуловых дугах – на уровне задних концов скуловых костей.

Промер № 23. Ширина черепа между наружными выступами надушных бугров.

Промер № 24. Ширина затылочной плоскости в верхних точках швов височных и затылочной костей.

Промер № 25. Наибольшее расстояние между наружными краями затылочных мыщелков.

Промер № 35. Длина ряда коренных зубов верхней челюсти от переднего края альвеолы *Pm*1 до заднего края альвеолы *M*3.

Промер № 42. Наименьшая ширина носовых костей.

Промер № 43. Наибольшая ширина носовых костей.

Промер № 46. Наибольшая длина лобных костей – от касательной к задним отросткам лобных костей до касательной, соединяющей их передние концы (по средней линии).

Промер № 61. Высота затылочной плоскости – от нижнего края затылочного отверстия до высшей точки середины затылочного гребня.

Промер № 62. Высота рыла на уровне переднего края шва носовых и добавочных верхнечелюстных костей (*ossa supramaxilaria*).

Промер № 63. Ширина мозговой части черепа в задних выходах височных ям на уровне середины латеральных отростков теменных костей.

Измерение черепов производили при помощи штангенциркуля и кронциркуля с точностью до 0,5 мм. Полученные данные были обработаны биометрически. На основании средних арифметических определены 15 индексов, имеющих наибольшее таксономическое значение.

Результаты биометрической обработки краниометрических данных и расчетов индексов приведены в таблицах 1 и 2.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

При сравнительном анализе полученных локальных показателей было обнаружено, что:

Краниометрические характеристики оленей лесного мегаэкотипа отличается от таковых других регионов оленеводства линейными размерами, слабой выраженностью перехода между мозговой и лицевой частями, мощным развитием затылочной области.

Самые крупные размеры черепа характерны для оленей тайги Эвенкии, Республики Тыва и Хабаровского края (таблица 1). Так, у самцов наибольшая длина и наибольшая ширина черепа составляют, соответственно, мм: в Эвенкии (Байкитский район) - 422,90 (412-441) и 176,50 (155-186); Тыве (Тоджинский район) - 410,00 (403-415) и 179,75 (175-183); Хабаровском крае (Аяно-Майский район) - 414,60 (388-433) и 180,00 (160-191).

У самок эти аналогичные промеры заметно ниже, соответственно: 365,40 (353-379) и 162,50 (158-168) мм; 366,00 (358-374) и 163,00 (156-168); 369,10 (352-381) и 159,10 (149-165) мм, что свидетельствует о хорошо выраженном половом диморфизме у северных оленей в размерах черепа.

Домашние олени остальных районов региона хотя и несколько уступают приведенным, но незначительно, с недостоверной разницей. Это позволяет отнести исследуемые популяции к одной породе – эвенкийской. Анализ краниометрических данных характеризует общность оленей лесной зоны Сибири и Дальнего Востока, что указывает на их филогенетическую связь.

Таблица 1 – Промеры черепа взрослых домашних северных оленей лесного мегаэкотипа (M± m), мм

Номера промеров	Эвенкийский МР n=10 (А.Д.Мухачев, Ю.Е.Макушев, 1976) [5]	Республика Тыва, n=4	Иркутская область, n=4	Республика Бурятия n=3	Забайкальский край, n=11 (П.И.Стремилов, 1973) [6],	Республика Саха (Якутия), n=5	Амурская область, n=5	Хабаровский край, n=10 (Б.Н.Барадиев, 1969) [7],	Сахалинская область, n=3
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	422,90±3,06 365,40±2,88	410,00±2,6 4 366,00±3,3 6	401,00±4,1 0 363,80±1,8 0	396,30±1,2 0 360,70±1,7 6	391,00±4,30 351,00±1,00	395,80±4,7 4 362,40±2,0 8	390,00±1,9 1 364,00±1,5 7	414,60±5,26 369,10±3,13	402,00±2,65 367,00±2,08
2	368,30±3,36 326,40±2,53	360,75±1,9 3 326,25±2,5 8	358,00±2,0 4 326,60±2,2 3	357,00±1,5 3 320,30±1,4 6	358,70±8,30 318,00±1,10	356,00±2,6 4 321,40±1,0 3	355,40±1,4 3 324,00±1,5 7	372,80±4,74 335,80±3,40	358,00±2,08 327,00±3,52
5	296,70±3,46 263,30±2,91	291,50±1,3 2 261,00±2,5 1	281,20±1,8 9 261,40±1,6 3	278,00±1,1 5 259,70±0,8 8	288,30±3,20 252,00±2,50	276,60±2,0 1 257,40±1,5 3	276,40±1,6 2 161,40±0,9 2	300,90±3,12 271,50±2,98	280,30±2,34 261,30±2,03
6	252,90±2,50 222,80±1,82	247,00±1,0 8 221,75±2,1 7	238,50±2,0 6 221,20±1,1 6	237,30±2,0 3 217,00±1,1 5	237,90±3,00 214,00±1,70	237,80±0,8 6 219,00±1,1 8	236,80±2,0 3 220,00±1,5 7	253,70±3,05 223,10±2,12	241,30±1,87 221,70±0,88
10	124,60±0,99 111,10±1,09	124,75±1,3 7 115,25±1,0 3	121,20±1,3 8 110,40±1,1 7	121,30±2,3 5 113,30±1,2 0	70,80±0,10 63,40±1,00	120,60±1,4 3 111,40±1,1 6	117,40±0,5 0 112,60±1,2 5	74,60±1,20 69,40±1,48	123,30±2,19 107,00±3,52
12	156,60±1,15 141,60±0,72	160,50±0,6 4 146,50±1,1 9	156,00±1,0 8 140,20±1,6 6	155,70±2,0 3 145,00±0,5 8	154,60±0,20 142,00±1,40	154,20±0,5 8 139,60±1,3 6	157,20±0,4 9 147,00±1,1 3	126,40±1,69 115,40±1,31	154,30±2,19 132,00±5,69
15	176,50±2,85 162,50±1,24	179,75±1,0 2 163,00±2,7 9	172,80±0,8 5 161,40±0,8 1	172,30±3,1 8 157,30±1,4 6	171,40±0,30 160,00±1,60	171,20±1,1 7 158,20±1,9 7	173,20±2,0 8 161,40±2,2 9	180,00±3,32 159,10±1,49	172,70±0,88 158,30±0,88
17	52,50±1,00 44,30±1,06	54,50±1,84 43,50±2,21	53,00±1,08 46,00±1,52	54,70±1,46 45,70±1,20	71,90±0,10 62,90±0,20	55,00±1,34 40,80±0,86	52,60±1,50 49,00±1,00	78,20±1,58 59,90±1,43	57,70±0,88 45,70±2,34
21	118,30±1,89 101,10±1,98	112,50±2,2 9 103,75±3,2 2	120,20±0,8 5 103,40±1,2 9	122,30±1,4 6 103,30±2,0 3	98,10±6,80 100,00±9,10	120,20±2,0 0 101,40±1,8 0	122,00±2,9 1 100,00±1,1 1	124,00±2,79 97,50±1,06	123,30±1,20 100,00±1,00

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
22	145,00±2,30 130,90±0,75	138,50±1,5 5 129,25±1,3 7	139,20±1,9 3 130,80±0,9 2	142,70±1,4 6 128,00±0,5 8	144,00±6,70 134,00±0,20	138,00±0,8 3 130,80±0,7 3	143,20±0,5 8 134,80±1,6 8	149,10±1,88 133,40±1,16	139,70±0,88 132,30±0,88
23	137,80±1,35 110,10±1,04	132,50±2,8 5 113,00±2,7 4	124,80±0,8 5 109,80±0,8 6	125,00±0,5 8 113,00±0,5 8	132,00±2,00 111,80±1,30	125,60±0,6 8 112,00±1,1 4	122,40±1,4 3 110,60±0,8 1	138,25±2,10 113,60±1,57	127,00±0,58 112,70±0,67
24	107,90±1,31 80,60±1,54	102,50±2,0 6 80,25±0,85	98,50±0,65 79,80±0,86	97,30±1,46 81,30±0,88	98,20±4,00 79,20±1,80	97,40±1,63 79,60±1,20	97,00±2,23 78,20±0,49	102,60±2,07 80,70±1,69	100,70±0,88 81,00±0,58
25	73,40±0,82 66,60±0,56	76,25±2,45 67,50±1,86	72,20±0,85 63,60±0,51	76,30±1,20 66,30±1,20	-	73,40±0,75 66,00±1,01	74,40±0,50 67,40±2,38	-	73,00±1,00 66,70±1,20
35	93,00±0,56 93,50±0,54	94,75±0,85 94,25±1,11	89,80±1,55 89,40±0,68	92,00±1,73 87,00±1,54	-	88,80±1,77 89,20±1,16	90,40±2,25 89,00±1,22	-	93,00±1,00 91,30±1,20
42	31,70±0,49 28,20±0,61	31,50±0,65 26,75±1,03	31,50±0,65 28,80±0,37	33,30±1,20 28,00±0,58	31,00±0,80 25,10±8,00	30,80±0,58 28,80±1,17	32,60±0,81 28,00±0,54	35,30±0,81 25,60±1,00	31,00±0,58 29,00±0,58
43	58,30±0,65 56,90±1,10	58,00±1,08 59,25±2,65	58,00±1,22 54,60±0,51	64,00±0,58 53,30±1,46	57,20±1,30 54,30±3,40	63,00±2,49 52,80±0,38	61,80±1,19 55,00±1,04	65,10±1,18 59,80±1,06	58,30±0,88 54,00±1,73
46	171,50±1,89 143,80±1,85	169,75±2,0 5 154,75±1,9 3	162,20±1,1 1 140,80±2,1 5	165,70±1,2 0 145,30±2,4 0	167,00±3,20 145,00±5,70	162,80±2,1 5 145,20±2,4 7	159,20±2,3 0 147,60±2,0 1	153,90±0,74 141,30±1,76	164,70±2,19 146,70±1,20
61	92,90±0,50 77,30±0,79	88,50±1,32 80,50±1,55	89,20±0,48 77,00±0,71	90,30±1,46 75,30±0,88	84,90±1,60 77,40±1,00	86,60±1,20 76,20±0,80	88,60±1,20 77,80±1,15	89,45±1,37 78,90±0,72	87,70±0,67 78,00±0,58
62	66,00±0,49 64,00±0,86	64,00±0,86 54,25±1,37	62,00±1,08 54,40±0,51	63,30±1,96 56,00±0,58	69,60±1,30 60,80±1,80	60,60±0,92 54,80±0,86	64,60±2,33 55,80±1,45	70,40±1,09 59,50±0,43	59,30±0,88 57,00±1,73
63	114,20±1,52 101,10±0,31	107,50±2,3 2 100,50±1,8 4	107,80±1,2 5 103,20±1,2 8	113,30±0,8 8 98,30±1,87	97,40±0,70 90,10±0,20	106,00±1,1 4 98,20±1,32	110,40±1,2 8 99,00±0,83	100,90±1,38 85,20±1,21	104,00±0,58 96,30±2,73

Примечание. Здесь и в табл.2.: в числителе - самцы, в знаменателе - самки.

Таблица 2 – Пропорции черепа (индексы) взрослых домашних северных оленей лесного мегаэкотипа, %

Индексы (номера промеров), (по: Соколов, 1937) [1]	Эвенкийский муниципальный район	Республика Тыва	Иркутская область	Республика Бурятия	Забайкальский край	Республика Саха (Якутия)	Амурская область	Хабаровский край	Сахалинская область
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
15/1	41,73 44,47	43,84 44,53	43,09 44,36	43,48 43,61	43,84 45,58	43,25 43,65	44,41 44,34	43,41 43,10	42,96 43,13
10/5	41,99 42,19	42,80 44,16	43,10 42,23	43,63 43,63	-	43,60 43,28	42,47 43,08	-	43,99 40,95
6/12	161,49 157,34	153,89 151,36	152,88 157,77	152,41 149,65	153,88 150,70	154,21 156,88	150,64 149,66	200,71 193,33	156,38 167,95
62/17	125,71 122,12	117,43 124,71	116,98 118,26	115,72 122,54	96,80 96,66	110,18 134,31	122,81 113,88	90,02 99,33	102,77 124,73
42/43	54,37 49,56	54,31 45,15	54,31 52,75	52,03 52,53	54,19 46,22	48,89 54,54	52,75 50,91	54,22 42,81	53,17 53,70
15/63	154,55 160,73	167,21 162,19	160,30 156,40	152,07 160,02	175,97 177,58	161,51 161,10	156,88 163,03	178,39 186,74	166,06 164,38
15/46	102,92 113,00	105,89 105,33	106,54 114,63	103,98 108,26	102,63 110,34	105,16 108,95	108,79 109,35	116,96 112,60	104,86 107,91
21/63	103,59 100,00	104,65 103,23	111,50 100,19	107,94 105,09	100,72 110,99	113,40 103,26	110,50 101,10	122,89 114,44	118,56 103,84
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
22/2	39,37 40,10	38,39 39,62	38,88 40,05	39,97 39,96	40,14 42,14	38,76 40,70	40,29 41,60	39,99 39,73	39,02 40,46
24/15	61,13 49,60	57,02 49,23	57,00 49,44	56,47 51,68	57,29 49,50	56,89 50,32	56,00 48,45	57,00 50,72	58,31 51,17
24/63	94,48 79,72	95,35 79,85	91,37 77,32	85,88 82,71	100,82 87,90	91,89 81,06	87,86 78,99	101,68 94,72	96,83 84,11
23/22	985,03 84,11	95,67 87,43	89,66 83,94	87,60 88,28	91,67 83,43	91,01 85,63	85,47 82,05	92,72 85,16	90,91 85,18
61/23	67,42 70,11	66,79 71,24	71,47 93,99	72,24 66,64	64,32 69,23	68,25 68,03	72,39 70,34	64,70 69,45	69,05 69,21
23/15	78,07 67,75	73,71 69,32	72,22 68,03	72,55 71,84	77,01 69,87	73,36 70,80	70,67 68,92	76,80 71,40	75,54 71,19
35/2	25,25 28,64	26,26 28,89	25,08 27,37	25,77 27,16	-	24,94 27,75	25,44 27,47	-	25,98 27,92
25/24	68,03 82,63	74,39 84,11	73,30 79,70	78,83 81,55	-	75,36 82,91	76,70 86,19	-	72,49 82,34

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Сравнение краниометрических показателей исследованных животных с тундровыми оленями показал, что череп таежных оленей Сибири и Дальнего Востока отличается достоверно большей величиной, а результаты индексов свидетельствуют о его относительно меньшем развитии в ширину, сужения в области орбит и скуловых дуг, узости носовых костей, удлиненности лицевой части и лобных костей, более высоком роструме и более мощном развитии затылочной области. Череп домашних таежных оленей по сравнению с таковым у диких таежных сородичей [8] показал относительно лучшее развитие в ширину, для него характерны меньшая вытянутость морды в длину и преимущественное ее развитие в высоту, лучшее развитие мозговой части черепа и затылочных мыщелков.

Краниометрические исследования как часть сравнительных фенотипических исследований оленей разных мегаэкотипов показывают значительную константность данных параметров на протяжении последних 50 лет, что дает основание использовать их при идентификации северных оленей с помощью нейронных сетей [9]. Исследования в этом направлении предполагается продолжить.

CRANIOMETRIC PHENOGEOGRAPHY OF FOREST REINDEER OF SIBERIA AND THE FAR EAST

Yuzhakov A.A. – D.Sc. (Agriculture), Chief Researcher of the Department of Animal Husbandry and Rational Nature Management of the Arctic (ORCID 0000-0002-3584-8381); **Mukhachev A.D.** – D.Sc. (Agriculture), Chief Researcher of the Department of Animal Husbandry and Rational Nature Management of the Arctic (ORCID 0000-0002-3584-8392); **Musidray A.A.** – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher of the Department of Animal Husbandry and Rational Nature Management of the Arctic (ORCID 0000-0002-0079-9938); **Laishev K.A.** * - D.Sc. (Veterinary Science), Chief Researcher. Department of Livestock and Rational Nature Management of the Arctic (ORCHID 0000-0003-2490-6942)

St. Petersburg Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences

* layshev@mail.ru

Financing: The materials were prepared within the framework of the State assignment on the topic FFZF-2025-0013 "Improving the scientific and technological foundations for the production of high-quality crop and reindeer herding products using the principles of adaptability, nature-likeness, and environmental safety in the conditions of Northwest Russia and the Arctic zone of the Russian Federation."

ABSTRACT

The study was conducted to establish the breed identity of domestic reindeer from the forest zone of Siberia and the Far East. A comparative analysis of craniometric data was conducted using 20 measurements and 15 indices. It was found that the craniometric characteristics of reindeer of this forest megaecotype significantly differ from those of animals from other reindeer herding regions by being larger. The indices indicate a relatively smaller width, narrowing of the orbits and zygomatic arches, narrow nasal bones, elongation of the facial region and frontal bones, a higher rostrum, and a more robust occipital region. Analysis of the craniometric data reveals similarities between reindeer from the forest zone of Siberia and the Far East, indicating their phylogenetic relationship. The largest skull sizes are characteristic of reindeer from Evenkia, the Republic of Tyva, and Khabarovsk Krai. Sexual dimorphism in skull size is clearly evident. Thus, in males in Evenkia (Baikitsky District), the greatest length and greatest width of the skull averaged 422.90 mm and 176.50 mm, respectively; in Tyva (Todzhinsky District), 410.00 mm and 179.75 mm; and in Khabarovsk Krai (Ayano-Maisky District), 414.60 mm and 180.00 mm. Sexual dimorphism in skull size is clearly pronounced; therefore, the corresponding measurements in females are noticeably lower. Domestic reindeer

from other areas of the regions, although somewhat smaller than those shown, are not significant, allowing us to classify the studied populations as belonging to a single breed – the Evenki – and to use craniometric parameters in the application of neural networks for reindeer identification.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Соколов И. И. Половозрастная и расовая изменчивость черепа дикого и домашнего северного оленя. //Сов. оленеводство. - 1937. - № 9.- С. 9-97.
2.Южаков А. А. Породы и проблемы селекции северных оленей России / А. А. Южаков, А. Д. Мухачев, К. А. Лайшев. - М.: Издательство "Наука", 2023. - 165 с. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=54594415
3.Южаков А. А. Сравнительный анализ фенотипических и генетических корреляций между зоотехническими признаками у домашних северных оленей / А. А. Южаков, К. А. Лайшев, Ю. А. Столповский, Г. Р. Свищева, М. Т. Сёмина // Международный вестник ветеринарии. - 2024. - № 3. - С. 429-442. - DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.3.429. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id= 80252667
4.Зуев С. М. Сравнение фенотипических особенностей лесных и тундровых домашних северных оленей. / С. М. Зуев, А. А. Южаков, А. А. Мусидрай, К. А. Лайшев //Труды Кубанского государственного аграрного университета. - 2024. - № - 111. - С. 177-182. DOI: 10.21515/1999-1703-111-177-182. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=68526759
5.Мухачев А. Д. Различия в строении черепа северного оленя Эвенкии в зависимости от пола и возраста / А. Д. Мухачев, Ю. Е. Макушев // Научные труды НИИСХ Крайнего Севера. - 1976. - № 22. - С. 39-48.
6.Стремилов П. И. Горно-таежные олени северо-восточного Забайкалья, их биологические и хозяйственные особенности: автореф. дис. ... кандидата биологических наук. Иркутск, 1973. - 24 с.
7.Барадиев Б. Н. Некоторые морфологически и биологические особенности аянских оленей: автореф. дис... кандидата биологических наук. Л., 1969. - 24 с.
8.Мухачев А.Д. Краниометрия северных оленей таежной зоны Сибири и Дальнего Востока. //Труды НИИСХ Крайнего Севера "Научное обеспечение рационального природопользования Енисейского Севера". - 2001. - С. 175-183. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=25617392
9.Соболевский В. А. Автоматические системы мониторинга животных на основе технологий AutoML. / В. А. Соболевский, К. А. Лайшев //Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. - 2024. - № 3. - С. 114-116 DOI: 10.52419/issn2782-6252.2024.3.114. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=72325843

REFERENCES

1. Sokolov I. I. Sex, age and racial variability of the skull of wild and domestic reindeer. //Soviet reindeer husbandry. 1937. No. 9. pp. 9-97.
2. Yuzhakov A. A. Breeds and problems of breeding of reindeer in Russia / A. A. Yuzhakov, A.D. Mukhachev, K. A. Laishev. Moscow: Nauka Publishing House, 2023. 165 p. Access mode: https://elibrary.ru/item.asp?id=54594415
3. Yuzhakov A. A., Laishev K. A., Stolpovsky Yu. A., Svishcheva G. R., Semina M. T. Comparative analysis of phenotypic and genetic correlations between zootechnical traits in domestic reindeer //International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2024. - No. 3. - pp. 429-442. - DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.3.429. Access mode: https://elibrary.ru/item.asp?id = 80252667
4. Zuev S. M. Comparison of phenotypic features of forest and tundra domestic reindeer. / S. M. Zuev, A. A. Yuzhakov, A. A. Musidray, K. A. Laishev //Proceedings of the Kuban State Agrarian University. - 2024. - No. 111. - pp. 177-182. DOI: 10.21515/1999-1703-111-177-182. Access mode: https://elibrary.ru/item.asp?id=68526759
5. Mukhachev A.D. Differences in the structure of the skull of the Evenkia reindeer depending on gender and age / A.D. Mukhachev, Yu. E. Makushev // Scientific works of

the Research Institute of the Far North. - 1976. - No. 22. - pp. 39-48.
6. Stremilov P. I. Mountain taiga deer of northeastern Transbaikalia, their biological and economic features: abstract of the dissertation of the Candidate of Biological Sciences. Irkutsk, 1973. - 24 p.
7. Baradiev B. N. Some morphological and biological features of the Ayan deer: abstract of the dissertation... Candidate of Biological Sciences. L., 1969. - 24 p.
8. Mukhachev A.D. Craniometry of reindeer in the taiga zone of Siberia and the Far East. //Proceedings of the Scientific Research Institute of the Far North "Scientific support of rational nature management of the Yenisei North". - 2001. - pp. 175-183. Access mode: https://elibrary.ru/item.asp?id=25617392
9. Sobolevsky V. A. Automatic animal monitoring systems based on AutoML technologies / V. A. Sobolevsky, K. A. Laishev // Regulatory and legal regulation in veterinary medicine. - 2024. - No. 3. - pp. 114-116 DOI: 10.52419/issn2782-6252.2024.3.114. Access mode: https://elibrary.ru/item.asp?id=72325843

УДК: 639.3.043.13
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.432

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ ПРОБИОТИКОВ В АКВАКУЛЬТУРЕ: ГИСТОЛОГИЧЕСКИЙ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВОЗДЕЙСТВИЯ БАЦЕЛЛ-М НА КАРПА ОБЫКНОВЕННОГО (*CYPRINUS CARPIO*)

Саврасова Н.П.[2] – асп. (ORCID 0009-0007-9328-2850); **Семенова Е.В.** [1]* – асп., мл. науч. сотр. лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем (ORCID 0000-0003-3675-5467); **Михайлов Е.В.** [1,2] – канд. ветеринар. наук, доц. каф. ветеринарно-санитарной экспертизы, эпизоотологии и паразитологии, зав. отделом экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем (ORCID 000-0001-54-57-1325); **Адаев Б.Н.**[1] – асп., лаборант лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем (ORCID 0009-0002-0843-8333).

[1]ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт патологии, фармакологии и терапии»
[2] Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I, факультет ветеринарной медицины и технологии животноводства

** elenasemyonova5@gmail.com*

Ключевые слова: *аквакультура, промысловое рыбоводство, карп обыкновенный, экспрессия генов, гистология, мышцы, пробиотик.*
Keywords*: aquaculture, commercial fish farming, common carp, gene expression, histology, muscle tissue, probiotic.*

Поступила:12.06.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Проведен 35-дневный эксперимент на двух группах рыб (контрольная и опытная, n=600 в каждой). Опытная группа получала рацион с добавкой «Бацелл-М» в дозе 2 кг/т корма. Для анализа использовались световая микроскопия гистологических срезов мышечной ткани, окрашенных гематоксилином и эозином, и метод ПЦР в реальном времени для оценки экспрессии генов LPL (липопротеинлипаза), FASN (синтаза жирных кислот) и FABP3 (белок, связывающий жирные кислоты). Дополнительно фиксировались зоотехнические показатели, такие как прирост массы, конверсия корма и сохранность поголовья. Установлено, что применение пробиотика «Бацелл-М» достоверно улучшило гистоархитектонику мышечной ткани, что проявилось в равномерности диаметра мышечных волокон, четкой организации миофибрилл и отсутствии признаков дистрофии. Молекулярно-генетический анализ выявил значительное повышение экспрессии генов LPL (в 3.7 и 4.2 раза на 14-е и 35-е сутки соответственно) и FABP3 (в 2.1 раза), а также снижение экспрессии гена FASN (в

3.0 и 2.7 раза), что свидетельствует об интенсификации утилизации липидов и снижении их синтеза *de novo*. Это коррелировало с улучшением производственных показателей: относительный прирост массы в опытной группе составил 26.2% против 15.5% в контроле, конверсия корма улучшилась (1.28 против 1.51), а сохранность поголовья повысилась до 98.7% против 91.8%. Пробиотик «Бацелл-М» оказывает выраженное положительное влияние на морфофункциональное состояние скелетной мускулатуры карпа, оптимизируя липидный обмен на молекулярном уровне. Это приводит к ускорению темпов роста, улучшению эффективности использования корма и повышению выживаемости. Препарат является перспективной биологически безопасной альтернативой для использования в современной аквакультуре.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Карп обыкновенный (*Cyprinus carpio*) занимает особое место в системе воспроизводства, поскольку от качества производителей напрямую зависит продуктивность всего рыбоводного хозяйства [1]. Карп обыкновенный, являясь одним из основных объектов пресноводной аквакультуры, демонстрирует высокую чувствительность к условиям содержания и кормления, что делает его подходящей моделью для изучения эффектов пробиотических воздействий [2]. Качество мышечной ткани производителей не только определяет их физиологическое состояние, но и влияет на репродуктивные показатели и качество потомства. В этом контексте пробиотические препараты приобретают особую значимость как альтернатива антибиотикам и химическим стимуляторам роста [3].

Пробиотический препарат Бацелл-М, содержащий живые культуры полезных микроорганизмов, представляет интерес как перспективное средство для повышения продуктивности маточного поголовья карпа [4]. Комплексное исследование его влияния на гистологические характеристики мышечной ткани и экспрессию ключевых генов позволит не только оценить эффективность применения данного препарата, но и углубить понимание молекулярных механизмов пробиотического воздействия на организм рыб, что имеет важное значение для развития научно обоснованных технологий в современном рыбоводстве.

Поэтому целью нашей работы было провести гистологический и молекулярно-генетический анализ воздействия пробиотической добавки Бацелл-М на карпа обыкновенного. Изучение влияния пробиотических препаратов на гистоморфологические особенности мышечной ткани и транскрипционную активность генов представляет собой актуальное направление современных исследований в области аквакультуры. Молекулярно-генетические подходы позволяют выявить механизмы воздействия пробиотиков на метаболические процессы в организме рыб, что создает научную основу для оптимизации технологий их применения. Анализ экспрессии генов, ответственных за рост, развитие мышечной ткани и иммунный ответ, дает возможность оценить эффективность пробиотических препаратов на молекулярном уровне. Полученные результаты могут внести существенный вклад в развитие современных технологий рыбоводства, направленных на повышение эффективности производства и улучшение качества рыбной продукции при соблюдении принципов экологической безопасности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В исследовании использовали две дискретные группы (n=1200) особей карпа обыкновенного (*Cyprinus carpio*) массой 800-900 г., выращенных на базе АО «Рыбопитомник» Воронежской области. Лабораторные исследования проводили на базе лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики отдела экспериментальной фармакологии и моделирования живых систем.

Экспериментальное исследование проводилось на двух группах гидробионтов товарного стада, каждая из которых включала по 600 особей.

Контрольная группа (n=600) форми-

ровалась из здоровых гидробионтов, не имеющих видимых патологических изменений, деформаций покровов, нарушений пигментации или других внешних признаков заболеваний. Все особи контрольной группы демонстрировали нормальную двигательную активность и типичное для данного вида поведение. На протяжении всего периода наблюдения рыбы контрольной группы получали стандартный базовый рацион без каких-либо добавок.

Опытная группа состояла из особей (n=600) того же товарного стада, отобранных по аналогичным критериям здоровья и соответствия биологическим нормам. В течение 30-дневного экспериментального периода гидробионты опытной группы получали основной рацион, идентичный контрольной группе, с добавлением пробиотического препарата «Бацелл-М» в течение 30 дней. Дозировка пробиотика составляла 2 килограмма на тонну корма, что обеспечивало равномерное распределение активных компонентов в рационе. Препарат тщательно перемешивался с основным кормом перед каждым кормлением для обеспечения однородности смеси и стабильной концентрации пробиотических микроорганизмов в суточной норме питания.

Взвешивание, убой и отбор биологического материала исследуемых особей всех групп (n=6) проходил в два этапа: первый – через 14 дней после начала эксперимента, второй – через 35 дней после начала исследований.

Экспериментальный протокол предусматривал содержание всех исследуемых особей в идентичных гидрохимических и температурных условиях. Параметры водной среды (содержание растворенного кислорода, pH, температурный режим, концентрация азотистых соединений) поддерживались в пределах физиологической нормы для данного вида.

Для проведения морфологических исследований тканей были отобраны образцы мышечной ткани поголовья, которые фиксировали в 10 %-ом растворе нейтрального формалина. Затем образцы тканей обезвоживали в растворах этилового спирта возрастающей концентрации и уплотняли парафином. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 3-5 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином и просматривали в светооптическом микроскопе.

Оценка экспрессии генов в мышечной ткани карпа обыкновенного проходила посредством ПЦР-анализа с добавлением красителя SYBR Green и с использованием специфичных праймеров генов. Выделение РНК осуществлялось набором «РНК-Экстран» (Синтол, Россия) по утвержденной инструкции. Оценку качества выделенной РНК произвели с помощью электрофореза в 2 % агарозном геле. Полимеразная цепная реакция проводилась на приборах Bio-Rad CFX 96 (Bio-rad, США) и Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия) с готовой коммерчески доступной смесью для PCR 5X qPCRmix-HS LowROX (Евроген, Россия). В качестве референсного гена выступал β -Актин (таблица 1).

Таблица 1 – Список праймеров для ПЦР в реальном времени

Исследуемый ген	Последовательность праймеров
β-Актин	F: GTACGTTGCCATCCAGGCTGTG R: ACGTCACACTTCATGATGGAGTTGAAG
FABP3	F: CAAGTTGGCAGTATGACCAAACCC R: TGCTGACGGTCTTAAGGGTGATG
LPL	F: CGCTCCATTCACCTGTTCAT R: GCTGAGACACATGCCCTTATT
FASN (FAS)	F: GACAGGCCGCTATTGCTATT R: TGCCGTAAGCTGAGGAAATC

Манипуляции с рыбой проводили с соблюдением правил биоэтических рекомендаций, описанных в руководстве по уходу и использованию лабораторных животных [5].

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью компьютерного пакета программ Statistica, версия v10. Достоверными считали показатели при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

При фоновом исследовании мышечной ткани поголовья (рисунок 1) отмечается неравномерность в диаметре мышечных волокон с очаговой фрагментацией миофибрилл. Эндомизий умеренно выражен, содержит небольшое количество соединительнотканных элементов. Сарколемма местами выглядит утолщенной. Ядра миоцитов располагаются преимущественно по периферии волокон, имеют овальную форму, хроматин распределен относительно равномерно.

На 14 сутки проведения эксперимента в контрольной группе (рисунок 2А) мышечная ткань характеризуется сохранением основной архитектоники, однако наблюдаются признаки умеренного напряжения метаболических процессов. Мышечные волокна имеют вариабельный диаметр, а также отмечается разрыхление межфибриллярных пространств. Поперечная исчерченность выражена удовлетворительно. Эндомизий содержит умеренное количество соединительной ткани с единичными лимфоидными элементами.

В опытной группе на 14 сутки применения пробиотика Бацелл-М (рисунок 2Б) отмечается улучшение гистологической картины. Мышечные волокна характеризуются более равномерным диаметром и четкой организацией миофибриллярного аппарата. Поперечная исчерченность хорошо выражена по всей длине волокон. Эндомизий тонкий, содержит минимальное количество соединительнотканных элементов. Ядра миоцитов имеют правильную овальную форму с равномерно распределенным хроматином, что свидетельствует об активизации анаболических процессов [6].

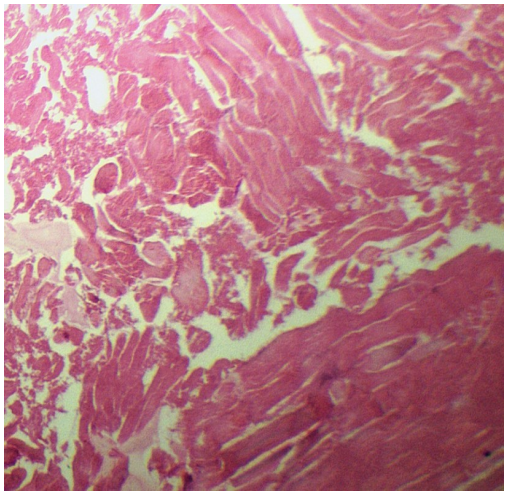


Рисунок 1 – Микрофотографии мышечной ткани особей карпа обыкновенного (Cyprinus carpio) при фоновом исследовании. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. х40.

На 35 сутки в контрольной группе (рисунок 3А) можно отметить значительную фрагментацию отдельных миофибрилл. В межволоконных пространствах наблюдается пролиферация соединительнотканных элементов. Поперечная исчерченность слабо выражена. Отдельные мышечные волокна имеют признаки вакуольной дистрофии. В опытной группе (рисунок 3Б) мышечные волокна характеризуются равномерным диаметром и хорошо организованной структурой. Поперечная исчерченность четко выражена, миофибриллы плотно упакованы. Эндомизий тонкий, без признаков избыточного разрастания соединительной ткани. Ядра миоцитов крупные, с четкими контурами и равномерно распределенным хроматином, что указывает на высокую метаболическую активность клеток и эффективность белкового синтеза под влиянием пробиотического препарата [7].

Для оценки полученных результатов гистологического исследования мышечной ткани оценивали экспрессию генов LPL, FASN, FABP3 (рисунок 4).

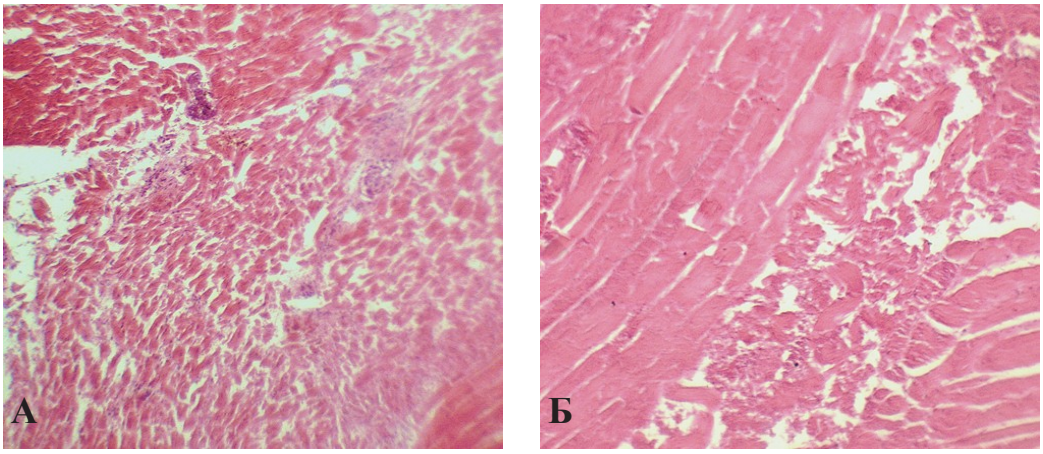


Рисунок 2 – Микрофотографии мышечной ткани особей карпа обыкновенного (Cyprinus carpio) на 14 сутки. А – контрольная группа, Б – опытная группа. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. Х100.

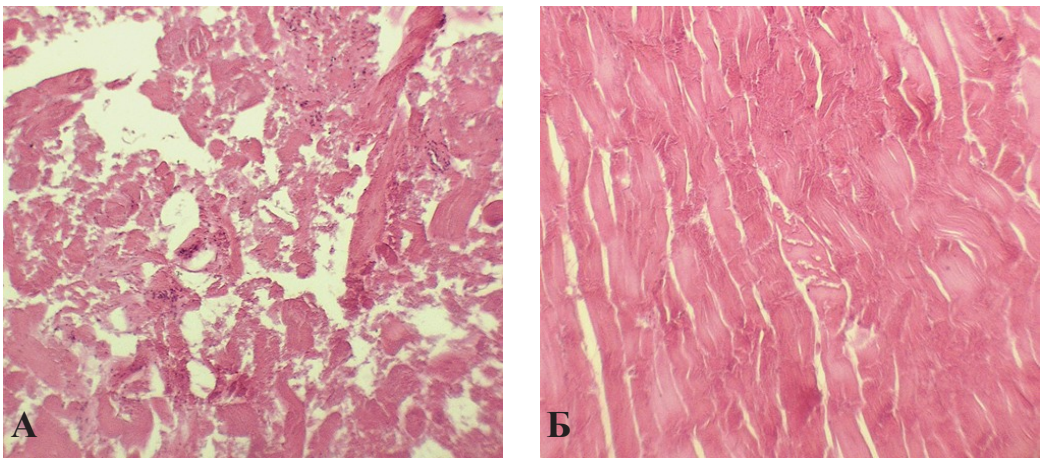


Рисунок 3 – Микрофотографии мышечной ткани особей карпа обыкновенного (Cyprinus carpio) на 35 сутки. А – контрольная группа, Б – опытная группа. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. Х100.

Фоновые исследования уровней экспрессии генов обмена веществ показали, что их активность была незначительно ниже от их экспрессии в контрольной группе исследования. Так, по сравнению с контрольной группой на 14-е сутки, ген LPL был ниже на 36,8% относительно контроля, FASN на 40,0%, а FABP3 – на 25,3%.

На 14-е сутки опыта экспрессия гена липопротеинлипазы (LPL) была выше в группе, где применялся пробиотик Бацелл-М в 3,7 раза по сравнению с контрольной группой. Это может свидетельствовать об усилении активности расщепления липидов и их последующем использовании в мышцах [8]. Активность гена синтазы жирных кислот, напротив, в опытной группе с пробиотиком Бацелл-М была ниже в 3,0 раза относительно группы контроля, что может быть связано с уменьшением синтеза жирных кислот при достаточном поступлении их извне с кормом [9]. Экспрессия гена белка 3, связы-

вающего жирные кислоты (FABP3) Была наибольшей в группе с применением пробиотика Бацелл-М в 2,1 раза относительно контрольной группы, что указывает на интенсификацию транспорта липидов.

На 35-е сутки показатели лишь незначительно поменялись, общая картина осталась идентичной. Экспрессия гена LPL в опытной группе с пробиотиком Бацелл-М была в 4,2 раза выше относительно контрольной группы, активность гена FASN была ниже в 2,7 раза по сравнению с контролем, а экспрессия гена FABP3 была выше, чем в контрольной группе в 2,1 раза.

Полученные данные экспрессии генов обмена веществ в мышцах у карпа обыкновенного на фоне применения пробиотика Бацелл-М могут указывать на улучшение показателей роста рыбы, а также на улучшение качества мяса за счёт оптимизации процессов липидного обмена. Также данные могут свидетельствовать о снижении накопления избыточных липидов в мышцах рыб.

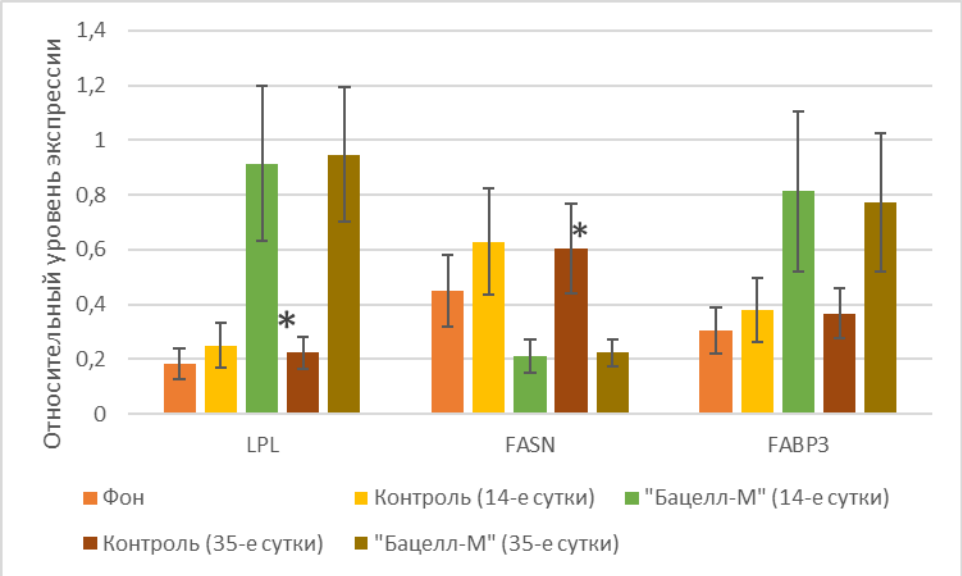


*Рисунок 4 – Уровни экспрессии генов обмена веществ LPL, FASN, FABP3 (при * <0,05).*

В ходе опыта ежедневно фиксировали поедаемость корма и проводили учет выживших особей, контрольные взвешивания выполняли при отборе биоматериала на 14-е и 35-е сутки (n=6 из каждой группы), а интегральные показатели рассчитывали для всего поголовья участвующего в эксперименте.

Средняя начальная масса рыбы в группах статистически не различалась и составляла 0,84±0,03 кг.

На 14-е сутки средняя масса в контрольной группе достигла 0,89±0,03 кг, в опытной группе 0,93±0,03 кг; относительный прирост массы за период составил 6,0% и 10,7% соответственно ($p<0,05$). На 35-е сутки средняя масса в контроле составила 0,97±0,04 кг, в опытной группе 1,06±0,04 кг. Суммарный относительный прирост за 35 суток в контрольной группе составил 15,5%, а в опытной - 26,2% ($p<0,05$) соответственно. Удельная скорость роста особей (SGR, % массы в сутки) за 35 дней была выше в опытной группе и составила 0,41% ($p<0,05$) а в группе контроль - 0,29%.

Конверсия корма (FCR), рассчитанная по суммарному расходу корма за цикл,

была лучше в опытной группе: 1,28 ед. против 1,51 ед. в контроле ($p<0,05$), что указывает на повышение эффективности использования корма на фоне применения пробиотика Бацелл М.

Сохранность поголовья к окончанию опыта составила 98,7% в опытной группе и 91,8% в контроле. Летальные случаи носили единичный характер и не сопровождались вспышками инфекционной патологии; при вскрытии специфических поражений не выявлено.

Полученные данные по динамике массы и сохранности согласуются с гистологической картиной сохранения архитектоники мышечной ткани и с молекулярно-генетическими показателями усиления транспорта и утилизации липидов (повышение LPL и FABP3 при снижении FASN). Это указывает на оптимизацию энергообеспечения миоцитов и перераспределение субстратов в пользу мышечного роста, что проявилось ускорением темпов прироста, улучшением FCR и повышением выживаемости.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Результаты комплексного исследования свидетельствуют о выраженном позитивном влиянии пробиотического препарата Бацелл-М в концентрации 2 кг/т корма на морфофункциональные характеристики скелетной мускулатуры карпа обыкновенного (*Cyprinus carpio* L.). Гистологический анализ мышечной ткани экспериментальной группы демонстрирует сохранение физиологически нормальной архитектоники миофибрилл, отсутствие признаков дегенеративно-дистрофических процессов и поддержание оптимальных структурно-функциональных параметров саркомеров.

Молекулярно-генетические исследования выявили статистически значимые изменения в экспрессионном профиле ключевых регуляторных генов липидного метаболизма. Установлено достоверное снижение уровня транскрипции генов, кодирующих ферменты липогенеза, что коррелирует с уменьшением интенсивности эктопического накопления липидных включений в миоцитах и сохранением метаболической активности мышечной ткани.

Добавление Бацелл-М в дозе 2 кг/т корма в течение 30 суток обеспечивает статистически значимое ускорение роста карпа обыкновенного, улучшает конверсию корма и повышает сохранность поголовья при идентичных условиях содержания. Эти эффекты коррелируют с улучшением гистоструктуры мышечной ткани и благоприятными сдвигами в экспрессии генов липидного обмена.

Результаты исследования обосновывают целесообразность внедрения пробиотических технологий в промышленное рыбоводство в качестве биологически безопасной альтернативы традиционным химиотерапевтическим препаратам. Полученные научные данные формируют теоретическую основу для разработки инновационных подходов к применению пробиотических препаратов в современных технологиях аквакультуры и способствуют повышению биологической и экономической эффективности рыбоводческого производства при соблюдении принципов экологической устойчивости.

MODERN APPROACHES TO STUDYING PROBIOTICS IN AQUACULTURE: HISTOLOGICAL AND MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF THE IMPACT OF BACELL-M ON THE COMMON CARP

Savrasova N.P.[2] – graduate student of the Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter I; **Semenova E.V.**[1]* – graduate student, ml. scientific sotr. Laboratory of innovative preparations of recombinant proteomics of the Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems (ORCID ID 0000-0003-3675-5467); **Mikhailov E.V.**[1,2] – Ph.D., Associate Professor of the Department of Veterinary and Sanitary Examination, Epizootology and Parasitology, Head of the Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems (ORCID ID 000-0001-54-57-1325); **Adaev B.N.**[1] – graduate student, laboratory assistant of the laboratory of innovative preparations of recombinant proteomics of the Depart-

ment of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems (ORCID ID 0009-0002-0843-8333).

[1] FSBSI 'All-Russian Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy',

[2] FSBSI "Ural Federal Agrarian Scientific Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences"

**elenasemyonova5@gmail.com*

ABSTRACT

A 35-day experiment was conducted on two groups of fish (control and experimental, n=600 in each). The experimental group received a diet supplemented with "Bacell-M" at a dosage of 2 kg per ton of feed. The analysis utilized light microscopy of histological sections of muscle tissue stained with hematoxylin and eosin, and the real-time PCR method to assess the expression of the LPL (lipoprotein lipase), FASN (fatty acid synthase), and FABP3 (fatty acid-binding protein) genes. Additionally, zootechnical indicators such as weight gain, feed conversion ratio, and survival rate were recorded. It was found that the use of the probiotic "Bacell-M" significantly improved the histoarchitecture of the muscle tissue, manifested in the uniformity of muscle fiber diameter, clear organization of myofibrils, and the absence of dystrophic signs. Molecular genetic analysis revealed a significant increase in the expression of LPL (by 3.7 and 4.2 times on days 14 and 35, respectively) and FABP3 (by 2.1 times) genes, as well as a decrease in the expression of the FASN gene (by 3.0 and 2.7 times), indicating an intensification of lipid utilization and a reduction in their *de novo* synthesis. This correlated with improved production indicators: the relative weight gain in the experimental group was 26.2% compared to 15.5% in the control, the feed conversion ratio improved (1.28 vs. 1.51), and the survival rate increased to 98.7% compared to 91.8%. The probiotic "Bacell-M" has a pronounced positive effect on the morphofunctional state of the skeletal musculature in carp, optimizing lipid metabolism at the molecular level. This leads to an acceleration of growth rates, improved feed efficiency, and increased survival. The preparation is a promising, biologically safe alternative for use in modern aquaculture.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Гистология и эмбриология рыб: краткий курс лекций для студентов I курса направления подготовки 35.03.08 «Водные биоресурсы и аквакультура» / Сост.: И.В. Зирук, В.В. Салаутин // ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ». – Саратов, 2014. – 98 с.

2. Оценка экспрессии генов и биохимических показателей крови карпа обыкновенного при применении пробиотика « Бацелл-М» в условиях антропогенного прессинга / Е. В. Михайлов, Н. В. Пасько, А. В. Голубцов и др. // Теория и практика инновационных технологий в АПК: материалы национальной научно-практической конференции (Воронеж, 1 марта-28 апреля 2023 г.): секция "Актуальные проблемы развития животноводства и ветеринарной медицины" (27 -31 марта 2023 г.) / Воронежский государственный аграрный университет. — Воронеж, 2023. – Ч. I.

3. Павлов К.В. Проблемы и перспективы развития аквакультуры: федеральный и региональный аспекты / К. В. Павлов // Экономический вестник Донбаса. – 2019. – № 1. – С. 198-203.

4. Экспрессия генов метаболизма в тканях карпа обыкновенного (Cyprinus carpio) на фоне применения пробиотика «Бацелл-М» / Е. В. Семенова, Н. А. Стрельников, Н. П. Саврасова, Е. Е. Курчаева // Технологии и экспертиза сельскохозяйственной продукции. – 2025. – № 1 (28). – С. 26-33. – DOI 10.53914/issn3034-6940_2025_1_26. – EDN AJJEOV.

5. Dadras H. et al. In vitro antioxidant enzyme activity and sperm motility at different temperatures in sterlet Acipenser ruthenus and rainbow trout Oncorhynchus mykiss // Fish Physiology and Biochemistry. – 2019. – Т. 45. – С. 1791-1800.

6. Eriegha O. J. Histopathology of Selected Economically Important Fish Species from the Escravos Estuary, Nigeria: A Baseline Study for Environmental Monitoring / Eriegha O. J. // International Journal of Innovative Studies in Aquatic Biology and Fisheries. - №9. – 2024. – P. 1-8. DOI:10.20431/2454-7670.0901001.
7. Hlordzi V. et al. The use of Bacillus species in maintenance of water quality in aquaculture: A review //Aquaculture reports. – 2020. – T. 18. – C. 100503.
8. Kubiriza G. K. et al. Growth and hepatic antioxidant enzyme activity of juvenile Arctic charr (Salvelinus alpinus) fed on diets supplemented with ethoxyquin, rosemary (Rosmarinus officinalis), or bladder wrack (Fucus vesiculosus) //Aquaculture International. – 2019. – T. 27. – C. 287-301.
9. Li X. Hepatic glucose metabolism and its disorders in fish / X. Li //Recent advances in animal nutrition and metabolism. – 2022. – № 1. - C. 207-236. DOI:10.1007/978 978-33 -030030-8568685686-1_11.

REFERENCES

1. Histology and embryology of fish: a short course of lectures for students of the first year of training 35.03.08 "Aquatic biological resources and aquaculture "/Comp.: I.V. Ziruk, V.V. Salautin//FSBEI HE" Saratov GAU. " - Saratov, 2014. - 98 s.
2. Assessment of gene expression and biochemical parameters of common carp blood when using the Bacell-M probiotic under anthropogenic pressure/E. V. Mikhailov, N. V. Pasko, A. V. Golubtsov et al .//Theory and practice of innovative technologies in the agro-industrial complex: materials of the national scientific and practical conference (Voronezh, March 1-April 28, 2023): section "Actual problems of the development of belly-innovation and veterinary medicine" (March 27-31, 2023)/Voronezh State Agrarian University. - Voronezh, 2023. - PART I.
3. Pavlov K.V. Problems and prospects for the development of aquaculture: federal and regional aspects/K.V. Pavlov//Economic Bulletin of Donbas. – 2019. – № 1. - S. 198-203.
4. Expression of metabolism genes in tissues of common carp (Cyprinus carpio) against the background of the use of the probiotic "Bacell-M "/E. V. Semenova, N. A. Strelnikov, N. P. Savrasova, E. E. Kurchaeva// Technologies and examination of agricultural products. – 2025. – № 1(28). - S. 26-33. – DOI 10.53914/issn3034-6940_2025_1_26. – EDN AJJEOV.
5. Dadras H. et al. In vitro antioxidant enzyme activity and sperm motility at different temperatures in sterlet Acipenser ruthenus and rainbow trout Oncorhynchus mykiss // Fish Physiology and Biochemistry. – 2019. - T. 45. - S. 1791-1800.
6. Eriegha O. J. Histopathology of Selected Economically Important Fish Species from the Escravos Estuary, Nigeria: A Baseline Study for Environmental Monitoring / Eriegha O. J. // International Journal of Innovative Studies in Aquatic Biology and Fisheries. - №9. – 2024. – P. 1-8. DOI:10.20431/2454-7670.0901001.
7. Hlordzi V. et al. The use of Bacillus species in maintenance of water quality in aquaculture: A review //Aquaculture reports. – 2020. - VOL. 18. - S. 100503.
8. Kubiriza G. K. et al. Growth and hepatic antioxidant enzyme activity of juvenile Arctic charr (Salvelinus alpinus) fed on diets supplemented with ethoxyquin, rosemary (Rosmarinus officinalis), or bladder wrack (Fucus vesiculosus) //Aquaculture International. – 2019. - VOL. 27. - S. 287-301.
9. Li X. Hepatic glucose metabolism and its disorders in fish / X. Li //Recent advances in animal nutrition and metabolism. – 2022. – № 1. - S. 207-236. DOI:10.1007/978 978-33 -030030-8568685686-1_11.

УДК: 636.2.082.12:575.113.2:636.234.1
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.441

GWAS-АНАЛИЗ БИОХИМИЧЕСКОГО И ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА МОЛОКА КОРОВ КРАСНОГО БЕЛОРУССКОГО СКОТА

Недашковский И.С. [1*] – канд. биол. наук, ст. науч. сотр., зав. отделом национального каталога Национального центра генетических ресурсов с.-х. животных (ORCID 0000-0003-0487-4576); **Сермягин А.А.**[2] – канд. с.-х. наук, директор (ORCID 0000-0002-1799-6014); **Михайлова М.Е.** [3] **–** канд. биол. наук, доц., зав. лабораторией генетики животных; **Песоцкий Н.И.** [4] **–** канд. с.-х. наук, доц., зав. лабораторией разведения и селекции молочного скота (ORCID 0000-0002-1437-3540); **Шейко Р.И.** [5] **–** д-р с.-х. наук, проф., член-корр., гл. науч. сотр.; **Шейко И.П.** [6] **–** д-р с.-х. наук, проф., академик НАН Беларуси, заслуженный деятель науки, первый заместитель генерального директора по научной работе (ORCID 0000-0002-4684-9830)

[1] Федеральный исследовательский центр «ВИЖ им. Л.К. Эрнста»
[2] Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных, филиал Федерального исследовательского центра животноводства — ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста
[3,5] Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси»
[4,6] РУП "Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству"

[*]e-mail: nedashkovsky_is@mail.ru

Ключевые слова: *красный белорусский скот, жирнокислотный состав молока, биохимический состав молока, GWAS.*
Keywords: *Belarusian Red cattle, fatty acid composition of milk, biochemical composition of milk, GWAS.*
Финансирование: *Исследования проведены при поддержке Российского научного фонда, за счет средств гранта №23-46-10002.*

Поступила: 14.11.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ
Проведен GWAS-анализ для идентификации маркеров однонуклеотидных полиморфизмов, детерминирующих показатели качества молока. Итоговая выборка составила 454 генотипа особей: 129 – красный белорусский скот, 325 – красная горбатовская порода. SNP-генотипирорвание проводили с помощью биочипа BovineSNP50 v3.0 (Illumina). Результативность чтения генотипов составила в среднем 0,979 (call rate). Поиск генов-кандидатов, осуществляли в базе данных NCBI по сборке генома Bos_taurus_UMD_3.1.1. Для поиска QTL использовали базу данных CattleQTLdb. Для корректировки результирующего значения P использовали поправку Бонферрони. Кислотность молока находится в пределах физиологической нормы, что свидетельствует о стабильности белкового и жирового обмена. Точка замерзания соответствует стандартным показателям качественного молока. Показатели кетоновых

тел (ацетон 0,08 мМоль/л, бета-гидроксибутират 0,04 мМоль/л) находятся на низком уровне, что указывает на отсутствие проблем с кетозом в стаде. Уровень мочевины (23,29 мг/100 мл) соответствует норме, что говорит о сбалансированности белкового питания животных. наблюдается высокий уровень пальмитиновой кислоты (1,03 г/100 г) как основного компонента молочного жира, а среди кислот значительную долю составляют длинноцепочечные (1,83 г/100 г) и среднецепочечные (1,69 г/100 г) жирные кислоты. При этом содержание полиненасыщенных кислот (0,13 г/100 г) находится на низком уровне. Анализ полногеномных данных компонентного состава молока коров красного белорусского скота выявил наиболее значимые ассоциации полиморфизмов в 17 генах: CTNND2, SEMA5A, POU6F2, MYO5A, FAM19A1, TNS3, PPP1R16A, CTNNA2, RCAN2, SYN3, UMAD1, PKHD1, BMP2K, KCTD8, CPNE5, OSBPL3 и EBF1. Причём, локусы генов количественных признаков CTNND2, SEMA5A, FAM19A1, MYO5A, POU6F2 ассоциируют с несколькими фенотипическими признаками. Установлено, что на хромосомах 4, 5, 7, 11, 20 и 22 имеются гены, сопряженные и изменчивостью ряда жирных кислот, следов метаболитов, казеина, транс-изомеров ЖК как для красного белорусского скота, так и красной горбатовской породы коров. На хромосомах 1, 2, 3, 9, 12, 13, 15, 17, 18, 24, 25 и 27-29 были идентифицированы гены и QTL, характерные только для животных красной горбатовской породы. На хромосомах 6, 10, 14 и 23 установлены достоверные полиморфизмы, определяющие изменчивость состава молока только для животных красного белорусского скота, что может использоваться при ведении дальнейшей селекционной работы.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Красный белорусский скот (КБС) является ценной отечественной популяцией, отличающейся приспособленностью животных к местным условиям, неприхотливостью, крепким здоровьем, хорошими воспроизводительными качествами, молочной продуктивностью, повышенным содержанием в молоке белка и жира, специфическим полиморфизмом белков крови и молока, который издавна разводился на территории Республики Беларусь [1].

Целенаправленная племенная работа с красным белорусским скотом проводилась во второй половине XIX ст. по двум главным направлениям: внутрипородное разведение и прилитие крови родственных пород (англерская, красная датская, красная польская и др.). Уже в сентябре 1901 года на выставке в Минске экспонировались животные красного белорусского скота. Первое обследование красного скота Гродненской губернии было проведено агрономами Дедовым Н.А., Михно А.И., Ширяевым В.И. и Атаназевичем Я.И. в 1910 г. В 1911 г. в Гродненской губернии была издана первая племенная книга красного белорусского скота, запись в которую проводилась на ежегодных выводках лучших животных. Владельцы записанных в племкнигу животных премировались. В лучших хозяйствах годовые удои коров достигали 3,7-4,0 тыс. кг молока жирностью 4,0% и более, средняя живая масса коров составляла 500-550 кг. Убойный выход бычков в возрасте 18 месяцев (по данным научно-хозяйственного опыта) равнялся 56%. В 1960 г. в Беларуси в результате многолетней селекционной работы в колхозах, совхозах и хозяйствах колхозников создана и официально утверждена качественно новая породная группа красного белорусского скота молочного направления, поголовье которой превысило 30 тысяч животных, а также приняты меры по дальнейшему совершенствованию породных качеств и увеличению поголовья красного белорусского скота в республике. В 1967 г. издан первый том Государственной племенной книги красного белорусского скота, в которую записано 102 быка -производителя и 169 коров. К середине 70-х гг XX ст. в мире произошло резкое уменьшение численности локальных пород сельскохозяйственных животных, обладающих целым рядом ценных хозяйственно полезных качеств, но не отличающихся высокой продуктивностью. Ис-

чезло около 30 пород крупного рогатого скота. В этот же период начался процесс резкого сокращения и породной группы красного белорусского скота, которая наряду с другими 12 аборигенными породами стран бывшего СССР оказалась на грани исчезновения. Вместе с этим важно подчеркнуть, что сохранение генофонда исчезающих пород является необходимым условием обогащения генетических ресурсов и увеличивает возможности создания новых пород сельскохозяйственных животных, отвечающих запросам общества и требованиям времени. В этой связи в начале 2000-х гг. на государственном уровне было принято решение о сохранении генофонда и создании стада красного белорусского скота на базе УСП «Новый Двор – Агро» Свислочского района Гродненской области [2,3,4].

Согласно исследованиям Felius et al. (2011), белорусский красный крупный скот был классифицирован в группу пород крупного рогатого скота балтийского красного скота [5]. Л.К. Эрнст и др. (1994) показали, что на протяжении всей своей истории, белорусский красный скот улучшали англерским и немецким красным скотом в конце 19 - начале 20 веков, польским красным и датским красным - в 20-30-х годах, эстонским красным и латышским красным - в 50-е годы и снова датским красным скотом - в 90-х годах 20 века [6]. За последние 30 лет в Республике Беларусь на смену аборигенной белорусской красной породе пришли черно-пестрая и голштинская порода, и сегодня она близка к исчезновению. Нами впервые изучен белорусский красный скот на полногеномном уровне. Нами показано отличие белорусского красного скота от других европейских тауриновых (пород красного корня). Наши результаты согласуются с результатами предыдущих исследований, основанных на других типах ДНК-маркеров, и отражают происхождение белорусских красных пород крупного рогатого скота и его недавнюю историю [7].

Для генотипирования ДНК животного наносится на чип. Реакция, происходящая между чипом и ДНК, считывается специальной компьютерной программой, в результате чего идентифицируется генотип каждого животного [8]. В результате геномная оценка включает в себя более 40000 генетических маркеров - «снипов» - на каждое животное, для ДНК-чипы средней плотности Illumina SNP50 [9].

В исследовании наших зарубежных коллег указано, что GWAS идентифицировал QTL признака для жирных кислот в генах DGAT1, CCDC57, SCD и GPAT4. Примечательно, что QTL для SCD в значительной степени отсутствовали в признаках, предсказанных инфракрасной спектрометрией, а QTL для GPAT4 отсутствовали в признаках, измеряемых напрямую. Аналогичным образом, для отдельных белков, измеряемых напрямую, мы идентифицировали QTL в генах CSN1S1, CSN3, PAEP и LTF, но QTL для CSN3 и LTF отсутствовали в признаках, предсказанных с помощью инфракрасной спектрометрии. Генетическая корреляция между содержанием жирных кислот и фракциями белков, измеренными напрямую и предсказанными с помощью инфракрасной спектрометрии, как правило, высока, но фенотипическая изменчивость этих признаков может быть обусловлена различной генетической архитектурой [10].

Исследования, проведенные на красном шведском скоте, установили, что анализ с использованием критерия хи-квадрат так и сравнение с предыдущими исследованиями GWAS выявиляют потенциальную связь между выявленными однонуклеотидными полиморфизмами (SNP) и коагуляционными свойствами молока. Обнаружен 121 генетический вариант, включая 12 ранее не описанных и 1 синонимичный вариант в гене CSN1S1. Генетические варианты могут быть потенциальными маркерами состава белка и коагуляции [11].

В целом правильность выбора наших методик расчетов верна и согласуется с данными зарубежных коллег. Так, исследование, проведенное на 5202 коровах голштинской, джерсейской и помесной

пород, с помощью стандартного GWAS для определения концентрации белка, лактозы, жира и жирных кислот в молоке выявило большинство QTL, идентифицированных с помощью однопризнакового GWAS, как правило, с более высоким уровнем значимости, а также ранее не выявленные QTL, определяющие состав молока. Каждый QTL, как правило, имел различный характер влияния в инфракрасной спектрометрии, что объясняет повышенную мощность. Поскольку SNP, отслеживающие разные QTL, как правило, имеют различный характер влияния, удалось выделить тесно сцепленные QTL. В целом, результаты данного исследования свидетельствуют о том, что использование данных инфракрасной спектрометрии как с помощью GWAS, так и с помощью метода наименьших квадратов, применяемого к геномным данным, может стать мощным инструментом для выделения QTL, определяющих состав молока [12].

В исследовании, проведенном в Турции на голштинской породе, отмечены однонуклеотидные полиморфизмы (SNP), связанные с надоем молока (MY), выходом жира (FY), выходом белка (PY) и скоростью доения (MS) в популяции крупного рогатого скота голштинской породы. Данные были получены от 79 молочных стад, включающих 17 166 коров, родившихся в период с 2012 по 2019 год. Генотипирование проводилось с использованием чипа Affymetrix Axiom Bovine 54K SNP, после проведения процедур контроля качества в анализ были включены 15 288 коров и 31 944 однонуклеотидных полиморфизма (SNP). Всего было выявлено 7 SNP, достоверно ассоциированных с изучаемыми признаками. Два SNP в BTA14 (rs109146371 и rs109350371) были достоверно ассоциированы с 305MY. Значимый SNP, ассоциированный с PY (rs41718954), был выявлен в BTA14, а другой SNP (rs10451141) в BTA18 показал значимую связь с FY. Кроме того, три SNP, достоверно ассоциированных с MS, были обнаружены в BTA2, BTA11 и BTA12 (rs29009916, rs109459144 и rs42647772). Примечательно, что в данном исследовании впервые выявлена ассоциация четырёх однонуклеотидных полиморфизмов (rs10451141 для FY и rs29009916, rs109459144 и rs42647772 для MS). Эти варианты локализовались вблизи генов, потенциально участвующих в функционировании молочных желез и синтезе компонентов молока. Хотя эти результаты были выявлены в популяции крупного рогатого скота голштинской породы, они имеют международное значение и применимость в связи с импортом семени из разных стран. В конечном счёте, данное исследование способствует разработке эффективных стратегий селекции для конкретных популяций и предоставляет ценную информацию о генетике признаков молочной продуктивности в глобальном масштабе [13].

Химический состав молочного жира коров красных пород отличается более высоким содержанием олеиновой и полиненасыщенных жирных кислот в молочном жире, что повышает его биологическую ценность и позволяет получать молочную продукцию более высокого качества [14; 15].

Проведение GWAS-анализа с биохимическим и жирнокислотным состава молока красного белорусского скота является логическим продолжением исследований на отечественных породах животных красного корня. Исходя из вышеизложенного целью исследования являлось генотипирование коров белорусского красного скота с помощью системы высокопроизводственного сканирования SNP-биочипов с проведением GWAS-анализа для идентификации маркеров однонуклеотидных полиморфизмов, детерминирующих показатели качества молока.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проведены на 129 головах красного белорусского скота, генофондного стада УСП «Новый Двор-Агро» Свислочского района, Гродненской области, республики Беларусь. Состав молока был определен

на анализаторе Combi Foss 7 (Foss Electric, Дания), работающего на основе метода инфракрасной Фурье-спектроскопии (ИФС). Исследуемые животные имеют продуктивность в среднем 7900 кг за 305 дней лактации. Проведено SNP-генотипирорвание с помощью биочипа BovineSNP50 v3.0 (Illumina). Результативность чтения генотипов составила в среднем 0,979 (call rate), при этом 12 особей не прошли порог качества выше 0,9 или 90%, что составило долю некачественных генотипов 4,7%. На этапе отбора образцов оценивались фенотипические параметры соответствия породности скота, родословная животного и далее принималось решение о включении животного в экспериментальную группу. Контроль качества SNPs (редактирование генетической базы) и поиск значимых полиморфизмов у крупного рогатого скота проводился посредством GWAS с помощью программного обеспечения Plink v.1.90 в среде программирования RStudio [16]. Поиск генов-кандидатов, локализованных в области идентифицированных SNP, осуществляли в базе данных NCBI по сборке генома Bos_taurus_UMD_3.1.1. Для поиска QTL и регионов под давлением отбора на хромосомах, имеющих сопряженность с функциональными характеристиками животных, использовали базу данных CattleQTLdb [17].

Для корректировки результирующего значения P используются методы проверки нескольких гипотез, такие как Бонферрони, и порог для суггестивных ассоциаций [18]. Статистическую обработку проводили в Statistica v.10.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты фенотипов биохимического и жирнокислотного состава молока коров красного белорусского скота представлены в таблице 1.

Таблица 1 – База данных фенотипов для выявления особенностей расширенного компонентного состава молока коров красного белорусского скота

Показатель	M	сигма	Cv, %
Содержание ацетона, мМоль/л	0,08	0,07	84,8
Бета-гидроксибутират, мМоль/л	0,04	0,05	111,1
Мочевина, мг х 100мл$^{-1}$	23,29	6,15	26,4
Точка замерзания, ºС	556,84	25,38	4,6
Кислотность, pH	6,47	0,09	1,5
Миристиновая кислота, г/100 г	0,47	0,12	25,1
Пальмитиновая кислота, г/100 г	1,03	0,28	27,1
Стеариновая кислота, г/100 г	0,42	0,10	22,6
Олеиновая кислота, г/100 г	1,36	0,33	24,3
Длинноцепочечные жирные кислоты, г/100 г	1,83	0,45	24,9
Среднецепочечные кислоты, г/100 г	1,69	0,42	25,0
Мононенасыщенные кислоты, г/100 г	1,36	0,33	24,2
Полиненасыщенные кислоты, г/100 г	0,13	0,04	27,8
Насыщенные кислоты, г/100 г	2,87	0,76	26,5
Короткоцепочечные кислоты, г/100 г	0,50	0,15	30,1
Трансизомеры жирных кислот, г/100 г	0,13	0,04	33,4

Проведенный анализ биохимических показателей молока позволяет сделать комплексную оценку метаболического статуса животных и качества молочной продукции. Кислотность молока находится в пределах физиологической нормы, что свидетельствует о стабильности белкового и жирового обмена (ГОСТ 32892-2014). Точка замерзания соответствует стандартным показателям качественного молока (ГОСТ 25101-2015). Показатели кетоновых тел (ацетон 0,08 мМоль/л, бета

-гидроксибутират 0,04 мМоль/л) находятся на низком уровне, что указывает на отсутствие проблем с кетозом в стаде. Уровень мочевины (23,29 мг/100 мл) соответствует норме, что говорит о сбалансированности белкового питания животных (ГОСТ 55282-2012).

Анализ же жирнокислотного состава демонстрирует свои особенности. Преобладание насыщенных жирных кислот над ненасыщенными, с значительной долей длинноцепочечных (1,83 г/100 г) и среднецепочечных (1,69 г/100 г) жирных кислот. Также наблюдается высокий уровень пальмитиновой кислоты (1,03 г/100 г) как основного компонента молочного жира. При этом содержание полиненасыщенных кислот (0,13 г/100 г) находится на низком уровне (ГОСТ 52054-2023).

В целом проведенный анализ позволяет характеризовать молоко коров красного белорусского скота как продукт высокого качества с оптимальным жирнокислотным составом. Относительно же низкие коэффициенты вариации большинства показателей (особенно pH, точка замерзания) указывают на однородность выборки и стабильность изучаемых показателей. Наличие же значительного количества насыщенных жирных кислот при низком уровне трансизомеров (0,13 г/100 г) делает молоко хорошим сырьем для производства различных молочных продуктов.

Анализ, проведенный нами ранее на красной горбатовской породе, установил, что в структуре компонентов жирнокислотного состава молока преобладали насыщенные ЖК - до 62% (C16:0 - 0,794 г/100 г молока). В группе мононенасыщенных ЖК обнаружено высокое содержание олеиновой (C18:1) ЖК - 1,126 г/100 г молока. В зависимости от длины углеродной цепи в весенне-летний период в молоке коров преобладают средне и длинноцепочечные ЖК - 1,165 и 1,433 г/100 г молока соответственно. Доля трансизомеров жирных кислот в молоке составила почти 2% (Cv - 90%). Между собой жирные кислоты, независимо от насыщенности и длины цепи, имеют положительную корреляцию более 0,7 [19].

Результаты генетических исследований мы представили в виде сводной статистики GWAS (рис 1-16), в основе которой лежит анализ частоты встречаемости аллелей разных генов.

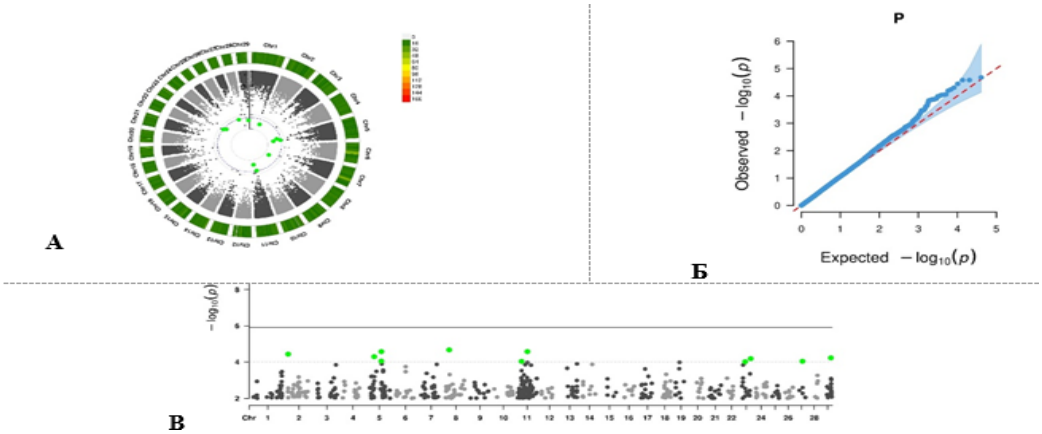


Рисунок 1 – Результаты анализа полногеномных ассоциаций для нормированного содержания следов ацетона в молоке коров красного белорусского скота (А - круговая диаграмма GWAS; Б – q-q (квантиль-квантиль) график распределения ожидаемых и наблюдаемых значений достоверности ассоциаций; В — манхеттанский график GWAS по наиболее значимым ассоциациям (верхняя линия — порог по Бонферрони, нижняя пунктирная — порог для суггестивных ассоциаций).

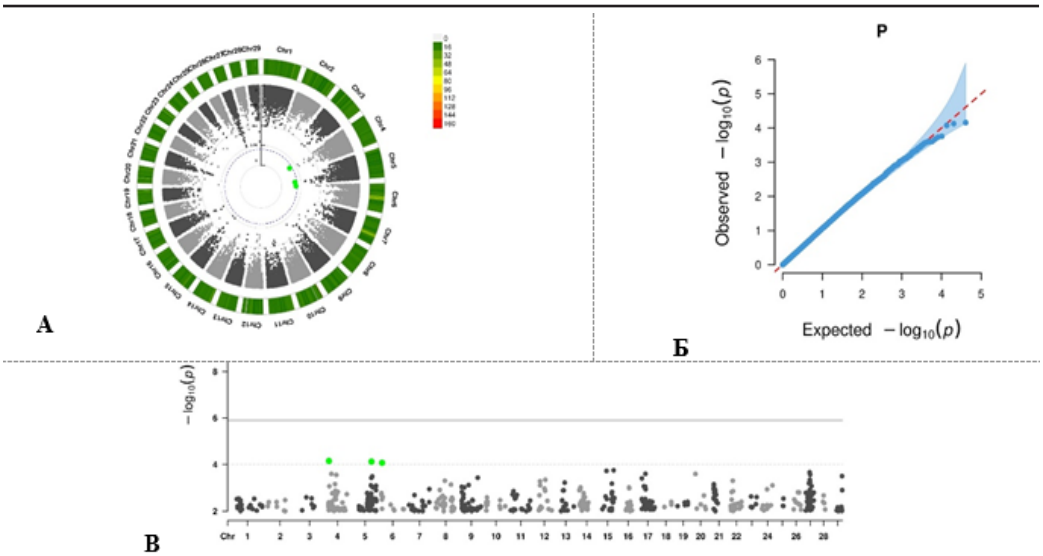


Рисунок 2 – Результаты анализа полногеномных ассоциаций для нормированного содержания следов бета-гидроксибутирата в молоке коров красного белорусского скота (А - круговая диаграмма GWAS; Б – q-q (квантиль-квантиль) график распределения ожидаемых и наблюдаемых значений достоверности ассоциаций; В — манхеттанский график GWAS по наиболее значимым ассоциациям (верхния линия — порог по Бонферрони, нижняя пунктирная — порог для суггестивных ассоциаций).

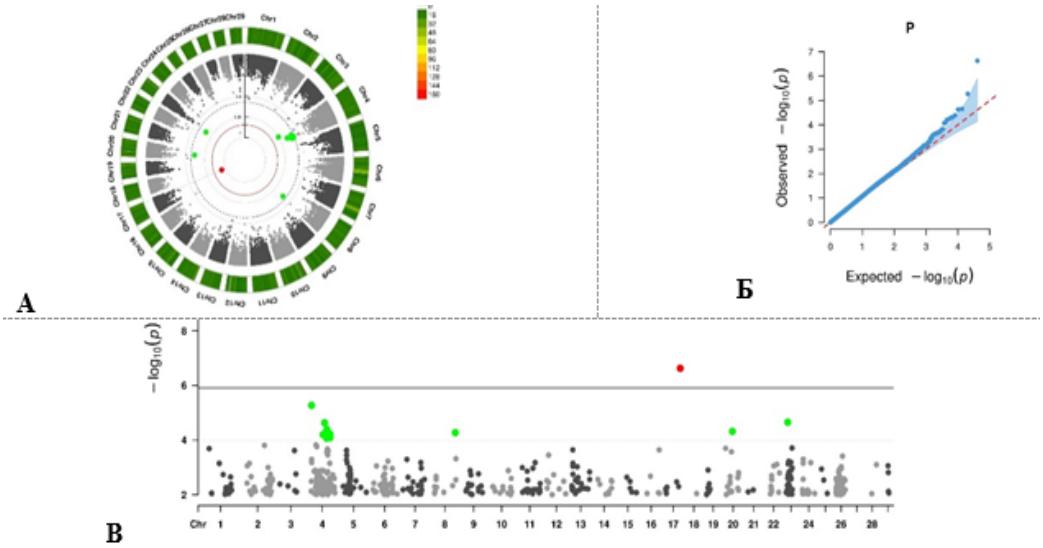


Рисунок 3 – Результаты анализа полногеномных ассоциаций для концентрации мочевины в молоке коров красного белорусского скота (А - круговая диаграмма GWAS; Б – q-q (квантиль-квантиль) график распределения ожидаемых и наблюдаемых значений достоверности ассоциаций; В — манхеттанский график GWAS по наиболее значимым ассоциациям (верхняя линия — порог по Бонферрони, нижняя пунктирная — порог для суггестивных ассоциаций).

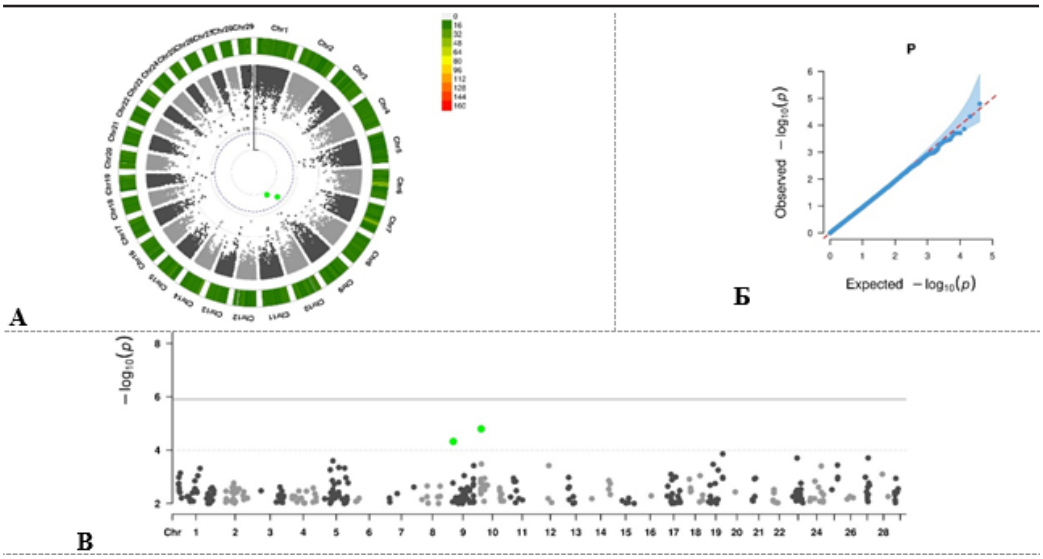


Рисунок 4 – Результаты анализа полногеномных ассоциаций для точки замерзания молока коров красного белорусского скота (А - круговая диаграмма GWAS; Б – q-q (квантиль-квантиль) график распределения ожидаемых и наблюдаемых значений достоверности ассоциаций; В — манхеттанский график GWAS по наиболее значимым ассоциациям (верхняя линия — порог по Бонферрони, нижняя пунктирная — порог для суггестивных ассоциаций).

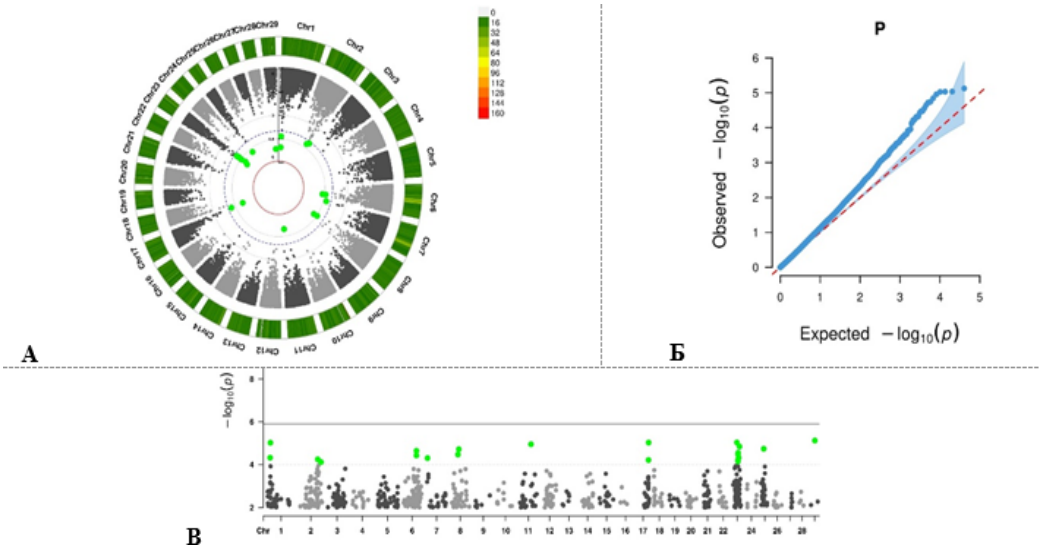


Рисунок 5 – Результаты анализа полногеномных ассоциаций для кислотности молока коров красного белорусского скота (А - круговая диаграмма GWAS; Б – q-q (квантиль-квантиль) график распределения ожидаемых и наблюдаемых значений достоверности ассоциаций; В — манхеттанский график GWAS по наиболее значимым ассоциациям (верхняя линия — порог по Бонферрони, нижняя пунктирная — порог для суггестивных ассоциаций).

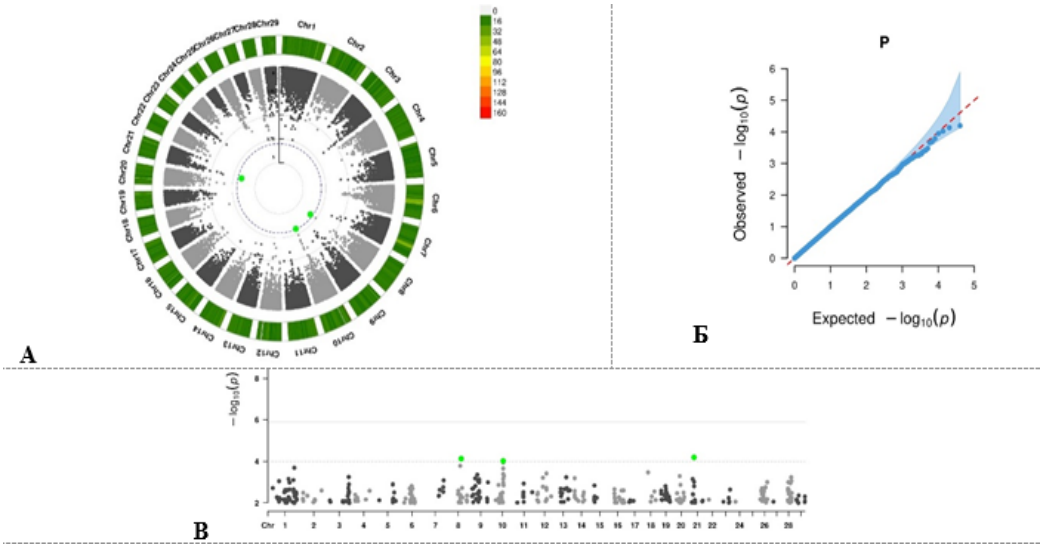


Рисунок 6 – Результаты анализа полногеномных ассоциаций для содержания миристиновой (C14:0) жирной кислоты в молоке коров красного белорусского скота (А - круговая диаграмма GWAS; Б – q-q (квантиль-квантиль) график распределения ожидаемых и наблюдаемых значений достоверности ассоциаций; В — манхеттанский график GWAS по наиболее значимым ассоциациям (верхняя линия — порог по Бонферрони, нижняя пунктирная — порог для суггестивных ассоциаций).

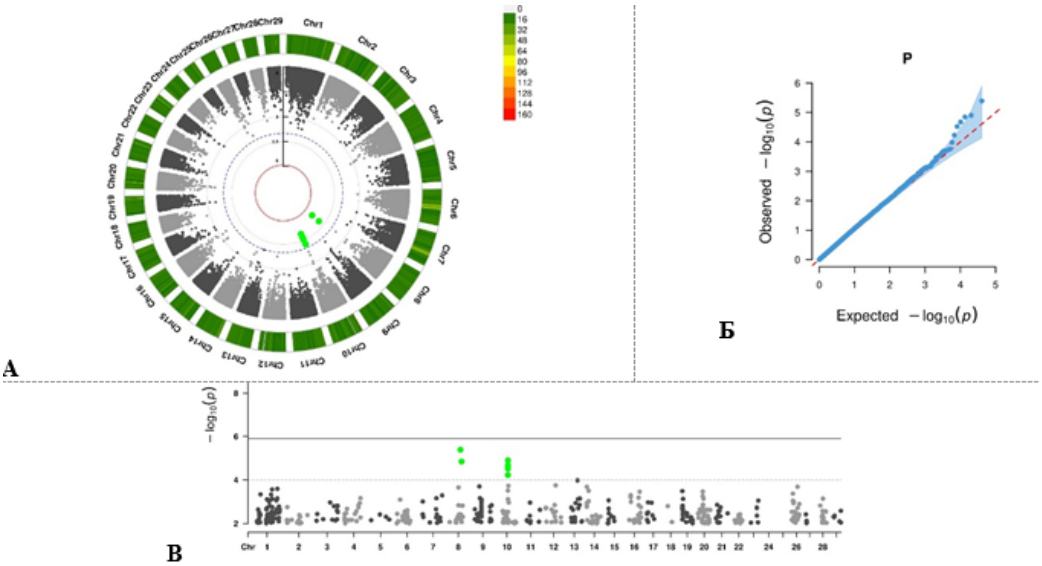


Рисунок 7 – Результаты анализа полногеномных ассоциаций для содержания пальмитиновой (C16:0) жирной кислоты в молоке коров красного белорусского скота (А - круговая диаграмма GWAS; Б – q-q (квантиль-квантиль) график распределения ожидаемых и наблюдаемых значений достоверности ассоциаций; В — манхеттанский график GWAS по наиболее значимым ассоциациям (верхняя линия — порог по

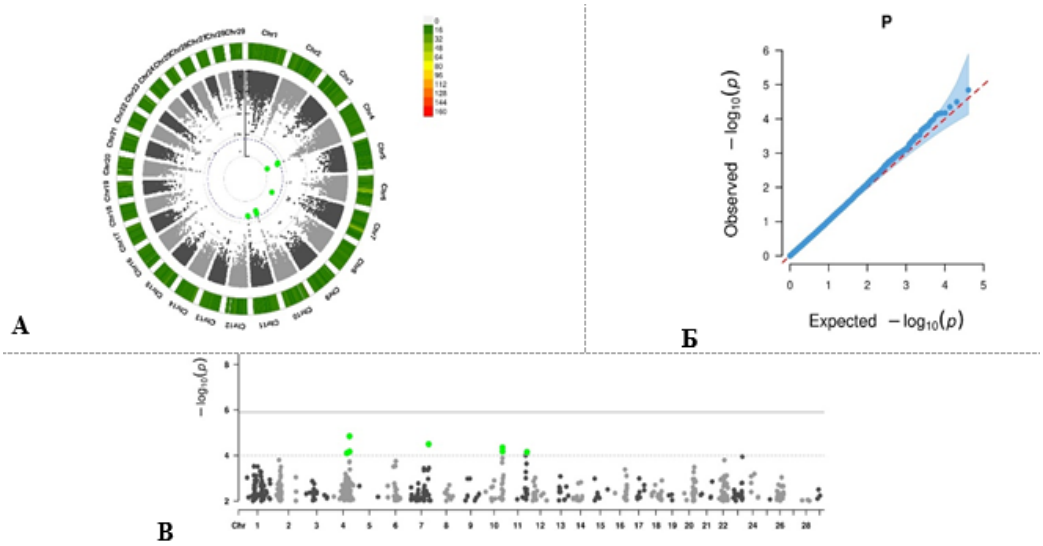


Рисунок 8 – Результаты анализа полногеномных ассоциаций для содержания стеариновой (C18:0) жирной кислоты в молоке коров красного белорусского скота (А - круговая диаграмма GWAS; Б – q-q (квантиль-квантиль) график распределения ожидаемых и наблюдаемых значений достоверности ассоциаций; В — манхеттанский график GWAS по наиболее значимым ассоциациям (верхняя линия — порог по Бонферрони, нижняя пунктирная — порог для суггестивных ассоциаций).

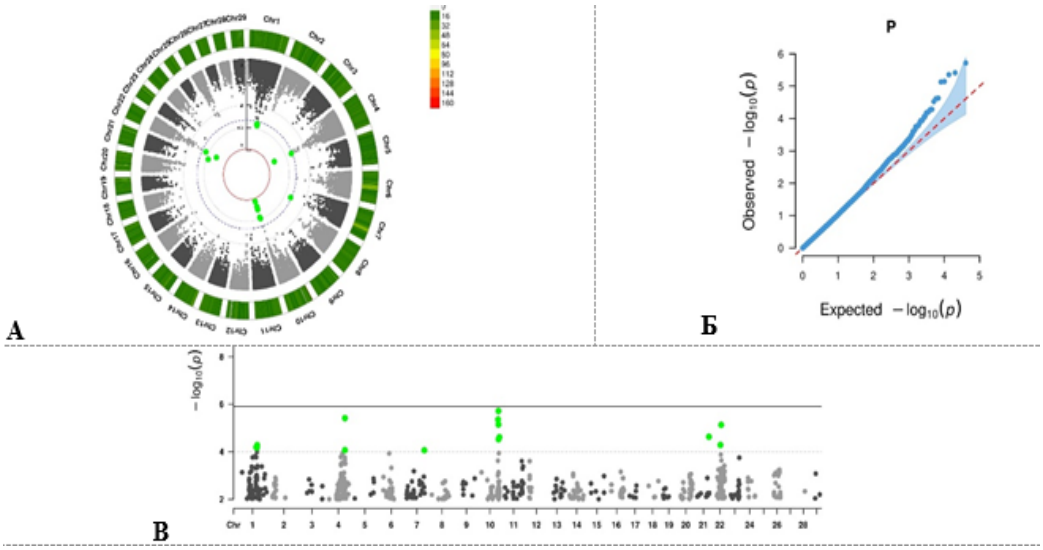


Рисунок 9 – Результаты анализа полногеномных ассоциаций для содержания олеиновой (C18:1) жирной кислоты в молоке коров красного белорусского скота (А - круговая диаграмма GWAS; Б – q-q (квантиль-квантиль) график распределения ожидаемых и наблюдаемых значений достоверности ассоциаций; В — манхеттанский график GWAS по наиболее значимым ассоциациям (верхняя линия — порог по Бонферрони, нижняя пунктирная — порог для суггестивных ассоциаций).

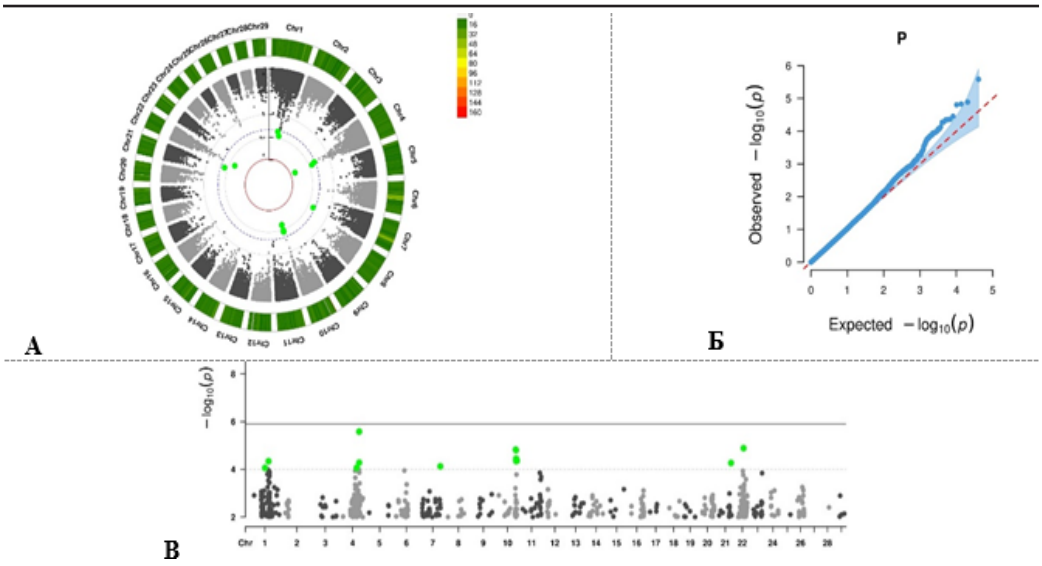


Рисунок 10 – Результаты анализа полногеномных ассоциаций для содержания длинно-цепочечных жирных кислот (LCFA) в молоке коров красного белорусского скота (А - круговая диаграмма GWAS; Б – q-q (квантиль-квантиль) график распределения ожидаемых и наблюдаемых значений достоверности ассоциаций; В — манхеттанский график GWAS по наиболее значимым ассоциациям (верхняя линия — порог по Бонферрони, нижняя пунктирная — порог для суггестивных ассоциаций).

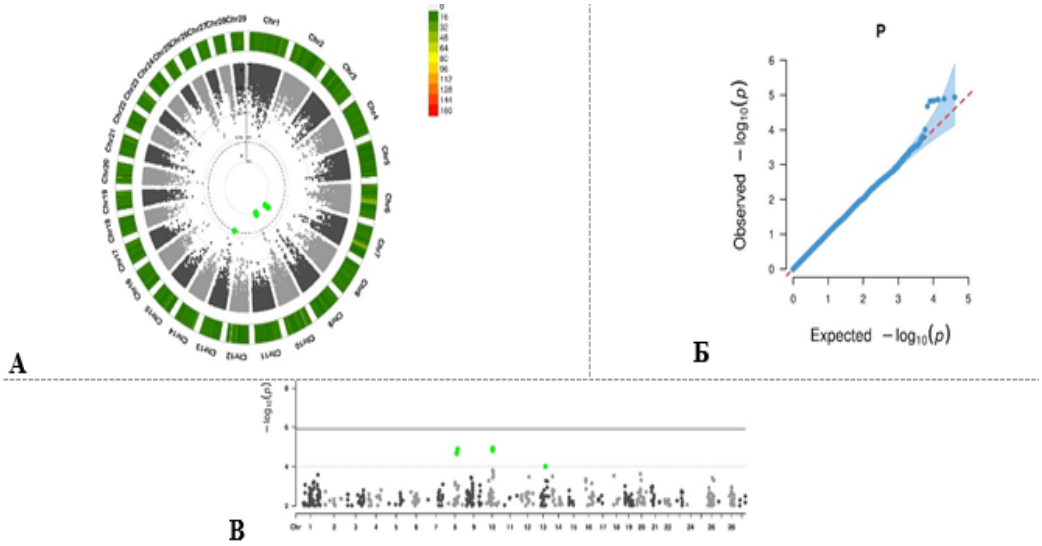


Рисунок 11 – Результаты анализа полногеномных ассоциаций для содержания средне-цепочечных жирных кислот (MCFA) в молоке коров красного белорусского скота (А - круговая диаграмма GWAS; Б – q-q (квантиль-квантиль) график распределения ожидаемых и наблюдаемых значений достоверности ассоциаций; В — манхеттанский график GWAS по наиболее значимым ассоциациям (верхняя линия — порог по Бонферрони, нижняя пунктирная — порог для суггестивных ассоциаций).

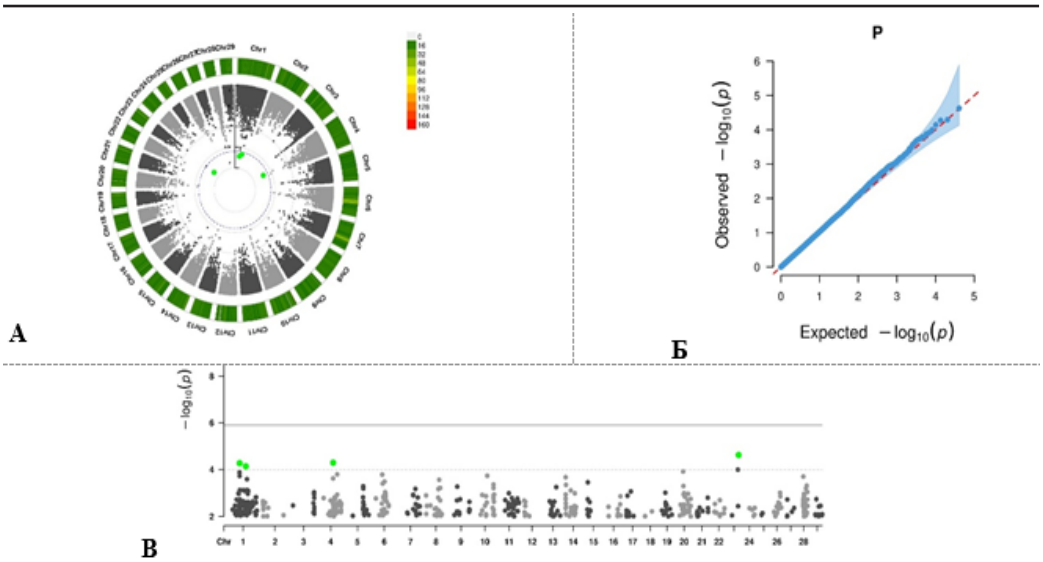


Рисунок 12 – Результаты анализа полногеномных ассоциаций для содержания коротко-цепочечных жирных кислот (SCFA) в молоке коров красного белорусского скота (А - круговая диаграмма GWAS; Б – q-q (квантиль-квантиль) график распределения ожидаемых и наблюдаемых значений достоверности ассоциаций; В — манхеттанский график GWAS по наиболее значимым ассоциациям (верхняя линия — порог по Бонферрони, нижняя пунктирная — порог для суггестивных ассоциаций).

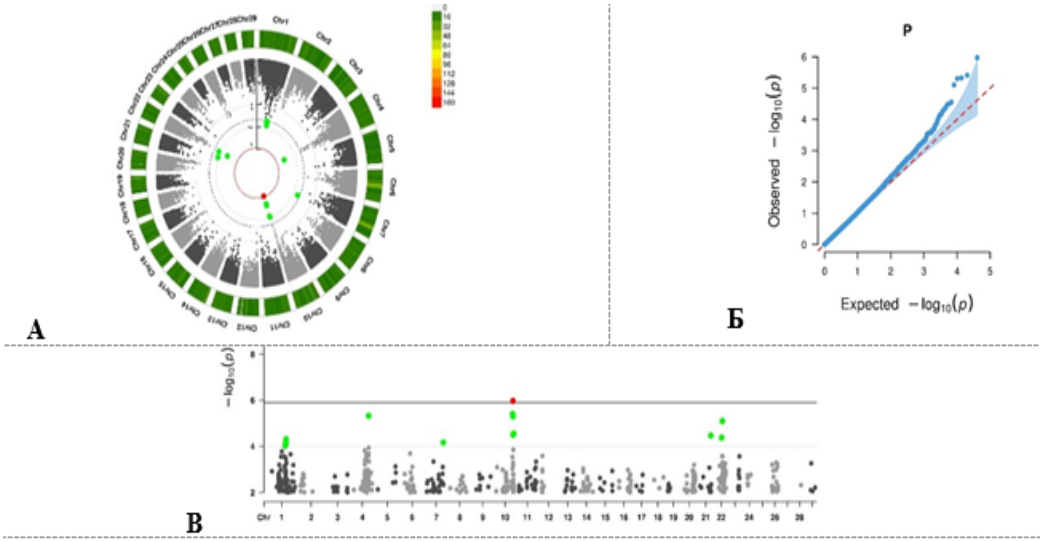


Рисунок 13 – Результаты анализа полногеномных ассоциаций для содержания мононенасыщенных жирных кислот (MUFA) в молоке коров красного белорусского скота (А - круговая диаграмма GWAS; Б – q-q (квантиль-квантиль) график распределения ожидаемых и наблюдаемых значений достоверности ассоциаций; В — манхеттанский график GWAS по наиболее значимым ассоциациям (верхняя линия — порог по Бонферрони, нижняя пунктирная — порог для суггестивных ассоциаций).

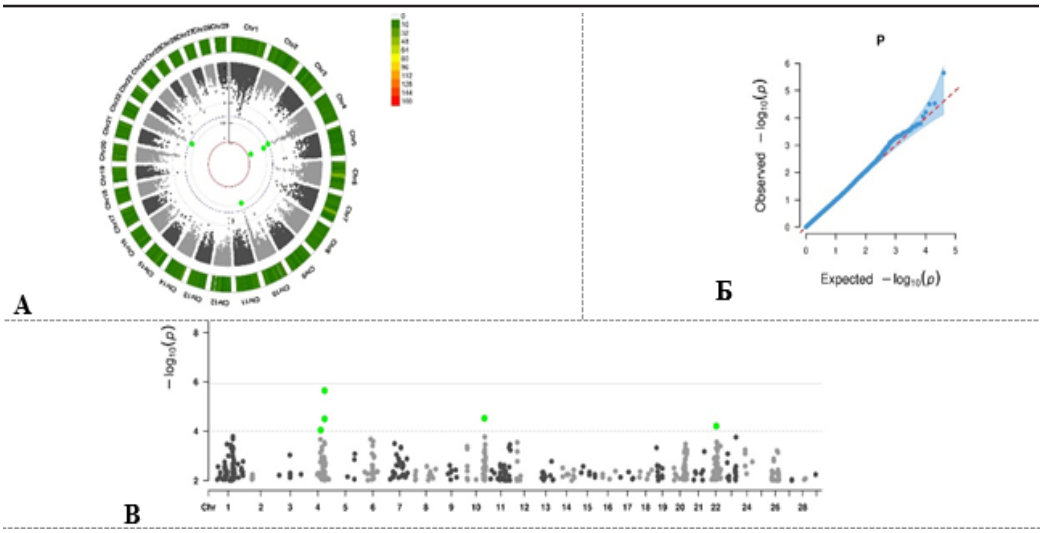


Рисунок 14 – Результаты анализа полногеномных ассоциаций для содержания полиненасыщенных жирных кислот (PUFA) в молоке коров красного белорусского скота (А - круговая диаграмма GWAS; Б – q-q (квантиль-квантиль) график распределения ожидаемых и наблюдаемых значений достоверности ассоциаций; В — манхеттанский график GWAS по наиболее значимым ассоциациям (верхния линия — порог по Бонферрони, нижняя пунктирная — порог для суггестивных ассоциаций).

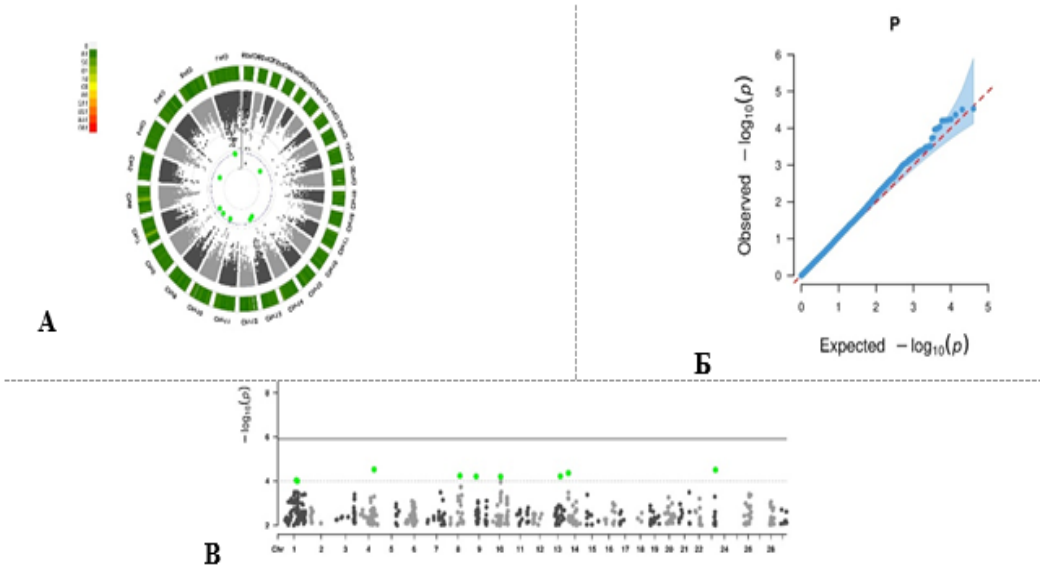


Рисунок 15 – Результаты анализа полногеномных ассоциаций для содержания насыщенных жирных кислот (SFA) в молоке коров красного белорусского скота (А - круговая диаграмма GWAS; Б – q-q (квантиль-квантиль) график распределения ожидаемых и наблюдаемых значений достоверности ассоциаций; В — манхеттанский график GWAS по наиболее значимым ассоциациям (верхния линия — порог по Бонферрони, нижняя пунктирная — порог для суггестивных ассоциаций).

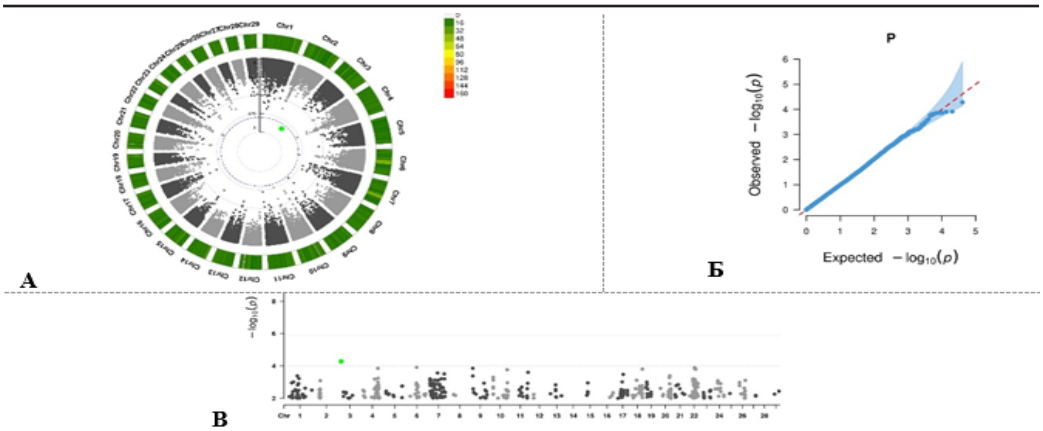


Рисунок 16 – Результаты анализа полногеномных ассоциаций для содержания транс-изомеров жирных кислот (TFA) в молоке коров красного белорусского скота (А - круговая диаграмма GWAS; Б – q-q (квантиль-квантиль) график распределения ожидаемых и наблюдаемых значений достоверности ассоциаций; В — манхеттанский график GWAS по наиболее значимым ассоциациям (верхняя линия — порог по Бонферрони, нижняя пунктирная — порог для суггестивных ассоциаций).

Полногеномный поиск ассоциаций — направление биологических исследований, связанных с изучением ассоциаций между генетических лоскутов и фенотипическими признаками, в нашем случае молока.

На рисунках 1-16 представлены результаты проведения полногеномного анализа ассоциаций с показателями компонентного состава молока коров красного белорусского скота. Анализ полногеномных данных компонентного состава молока коров красного белорусского скота выявил ассоциации полиморфизмов в 17 генах: *CTNND2, SEMA5A, POU6F2, MYO5A, FAM19A1, TNS3, PPP1R16A, CTNNA2, RCAN2, SYN3, UMAD1, PKHD1, BMP2K, KCTD8, CPNE5, OSBPL3* и *EBF1,* наиболее значимые из них (12 генов) приведены в таблице 2. Причём, локусы генов количественных признаков *CTNND2, SEMA5A, FAM19A1, MYO5A, POU6F2* ассоциируют с несколькими фенотипическими признаками. Полиморфизм гена *CTNND2* ассоциируется как с восприимчивостью к туберкулезу, телосложением, так и с содержанием пентадециловой жирной кислоты в молоке, скоростью молокоотдачи (доением) и уровнем тироксина.

Существенное влияние на функции генов и соответственно всего организма, оказывают вариации в последовательности ДНК, которая встречаются в популяции. Результаты аннотации генов, сопряженных с известными локусами количественных признаков, по международной базе данных (Animal QTL Database, https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/BT/index) приведены в таблице 3.

Для гена *POU6F2* при его плейотропном действии на ряд жирных кислот (длинноцепочечные, стеариновая ЖК, концентрация мочевины), был определен QTL, сопряженный с выходом молочного белка. Единичное действие было отмечено для наиболее значимых генов *TNS3* (BTA4, выход белка молока), *PPP1R16A* (BTA14, молочная продуктивность, выход продукции жира и белка), *CTNNA2 (BTA11*, скорость молокоотдачи), *RCAN2* (BTA23, показатели оценки экстерьера, молочная продуктивность, фертильность), *SYN3* (BTA5, продолжительность хозяйственного использования, фертильность, экстерьерные параметры), *PKHD1* (BTA23, фертильность, выход продукции молочного жира и белка, оценка количества соматических клеток), *EBF1* (BTA7, легкость отела, молочная продуктивность, оценка типа телосложения.

Таблица 2 – Результаты анализа полногеномных ассоциаций с компонентным составом молока коров красного белорусского скота по выявленным наиболее значимым полиморфизмам (p<0,0001)

Признак	Хромосома	SNP	p-значение	Позиция на хромосоме, п.о. (bp)	Ген	Группа признаков
плейотропное действие генов						
MUFA	22	ARS-BFGL-NGS-79484	4,17E^{-05}	33511119	*FAM19A1*	MUFA, PUFA, C18:1
PUFA	22	ARS-BFGL-NGS-79484	6,21E^{-05}	33511119	*FAM19A1*	MUFA, PUFA, C18:1
C18:1	22	ARS-BFGL-NGS-79484	5,20E^{-05}	33511119	*FAM19A1*	MUFA, PUFA, C18:1
MCFA	10	BTA-91406-no-rs	1,35E^{-05}	58054825	*MYO5A*	MCFA, SCScore, SFA, Лактоза, МДЖ, C14:0
SFA	10	BTA-91406-no-rs	6,25E^{-05}	58054825	*MYO5A*	MCFA, SCScore, SFA, Лактоза, МДЖ, C14:0
C14:0	10	BTA-91406-no-rs	9,47E^{-05}	58054825	*MYO5A*	MCFA, SCScore, SFA, Лактоза, МДЖ, C14:0
LCFA	4	ARS-BFGL-NGS-108354	8,67E^{-05}	82167575	*POU6F2*	LCFA, Мочевина, C18:0
Мочевина	4	ARS-BFGL-NGS-108354	4,11E^{-05}	82167575	*POU6F2*	LCFA, Мочевина, C18:0
C18:0	4	ARS-BFGL-NGS-108354	7,96E^{-05}	82167575	*POU6F2*	LCFA, Мочевина, C18:0
единичное действие генов						
Ацетон_логарифм	11	ARS-BFGL-NGS-37348	2,64E^{-05}	55372054	*CTNNA2*	Ацетон_логарифм
Мочевина	23	ARS-BFGL-NGS-94682	2,23E^{-05}	10688252	*CPNE5*	Мочевина
Мочевина	4	BTA-88376-no-rs	2,35E^{-05}	71356324	*OSBPL3*	Мочевина
Кислотность	23	ARS-BFGL-BAC-28328	9,24E^{-06}	23934499	*PKHD1*	Кислотность
SFA	14	ARS-BFGL-NGS-57820	4,31E^{-05}	1651311	*PPP1R16A*	SFA
Ацетон_логарифм	23	ARS-BFGL-NGS-101622	9,55E^{-05}	19693791	*RCAN2*	Ацетон_логарифм
Ацетон_логарифм	5	Hapmap57762-ss46526764	2,65E^{-05}	71810896	*SYN3*	Ацетон_логарифм
PUFA	4	Hapmap50073-BTA-71460	8,96E^{-05}	75559460	*TNS3*	PUFA
БГБ_логарифм	4	UA-IFASA-6068	6,97E^{-05}	16428953	*UMAD1*	БГБ_логарифм

Таблица 3 – Аннотация полиморфизмов внутри генов по результатам проведения полногеномного анализа ассоциаций (GWAS) для популяции красного белорусского скота

Признак	Ген	Название гена	Хромосома	Позиция SNP, bp	Локализация гена на хромосоме	Локус количественного признака (QTL, по базе данных Animal QTL Database)
общие гены (плейотропный эффект)						
Мононенасыщенные ЖК (MUFA) / полиненасыщенные ЖК (PUFA) / олеиновая ЖК (C18:1)	*FAM19A1*	Family with sequence similarity 19 member A1, C-C motif chemokine like	22	33511119	(33081564… 33591957)	Вес туши (QTL:151386)
Среднецепочечные ЖК (MCFA) / оценка КСК (SCScore) / насыщенные ЖК (SFA) / Массовая доля лактозы, массовая доля жира (МДЖ) / миристиновая ЖК (C14:0)	*MYO5A*	Myosin VA	10	58054825 58076494	(57953090… 58158500)	Коэффициент стельности (QTL:176425)
Длинноцепочечные ЖК (LCFA) / концентрация мочевины / стеариновая ЖК (C18:0)	*POU6F2*	POU class 6 homeobox 2	4	82167575	(82104333...824 95453)	Выход молочного белка (QTL:175366)

единичное действие генов						
Полиненасыщенные ЖК (PUFA)	*TNS3*	Tensin 3	4	75559460	75347776...75570373	Выход молочного белка (QTL:175365)
Насыщенные ЖК (SFA)	*PPP1R16A*	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 16A	14	1651311	(1628814…1652490)	Содержание цитрата в молоке (QTL:238634); Процент жира в молоке (QTL:175827; QTL:173580); Выход молочного жира (QTL:174146; QTL:175910); Процент белка в молоке (QTL:174928); Выход молочного белка (QTL:175503); Удой молока (QTL:174534)
Нормированное значение концентрации ацетона	*CTNNA2*	Catenin alpha 2	11	55372054	(54722279…56082242)	Выход молочного жира (QTL:156658); Скорость молокоотдачи (доения) (QTL:220078)
	RCAN2	Regulator of calcineurin 2	23	19693791	(19435241…19714193)	Глубина туловища (QTL:52122); Восприимчивость к туберкулезу крупного рогатого скота (QTL:167679; … QTL:167852); Легкость отела (QTL:52123); Постановка копыт и конечностей (QTL:52126); Угол копыта (QTL:52125); Продолжительность продуктивной жизни (QTL:52132); Выход молочного жира (QTL:52130); Коэффициент стельности (QTL:52124); Ширина крестца (QTL:52133); Оценка количества соматических клеток (QTL:52134); Рост (QTL:52135); Крепость телосложения (QTL:52136); Расположение сосков (QTL:52128); Прикрепление вымени (QTL:52129); Борозда вымени (QTL:52137); Глубина вымени (QTL:52138)

						Глубина туловища (QTL:41194; QTL:41177); Легкость отела (QTL:41229; … QTL:41211); Выраженность молочных форм (QTL:41179); Постановка копыт и конечностей (QTL:41197; QTL:41181; QTL:41219); Угол копыта (QTL:41218; QTL:41196); Продолжительность продуктивной жизни (QTL:41204; QTL:41225); Процент жира в молоке (QTL:41198); Выход молочного жира (QTL:41223; QTL:41202); Процент белка в молоке (QTL:41205); Выход молочного белка (QTL:41226; QTL:41206); Коэффициент стельности (QTL:173389; QTL:173387; QTL:173388);
Нормированное значение концентрации ацетона	*SYN3*	Synapsin III	5	71810896	(71474782… 71961617)	Расположение задних ног — вид сзади (QTL:41186; QTL:41207); Расположение задних ног — вид сбоку (QTL:41227; QTL:41208); Ширина крестца (QTL:41189; QTL:41210); Оценка количества соматических клеток (QTL:41230); Рост (QTL:41213; QTL:41190); Мертворождение (QTL:41212; QTL:41180; QTL:41217); Крепость телосложения (QTL:41191; QTL:41231; QTL:41214); Длина сосков (QTL:41232); Расположение сосков (QTL:41200; QTL:41183; QTL:41221; QTL:41187); Прикрепление вымени (QTL:41201; QTL:41184; QTL:41222); Борозда вымени (QTL:41192; QTL:41233); Глубина вымени (QTL:41215; QTL:41193; QTL:41234); Высота прикрепления вымени (QTL:41209; QTL:41228; QTL:41188)

Нормированное значение концентрации БГБ (бета-гидрокси бутират)	*UMAD1*	UBAP1-MVB12-associated (UMA) domain containing 1	4	16428953	(15604208…16934521)	Содержание линолевой жирной кислоты в молоке (QTL:34279; QTL:34993)
Кислотность (pH)	*PKHD1*	PKHD1, fibrocystin/polyductin	23	23934499	(23795563...24254466)	Возраст полового созревания (QTL:172268); Возраст первого осеменения (QTL:212358) Коэффициент осеменения на плодотворное зачатие (QTL:212939); Выход молочного жира (QTL:223344); Выход молочного белка (QTL:223347); Удой молока (QTL:223325; QTL:223326); Оценка количества соматических клеток (QTL:223353; QTL:223352); Борозда вымени (QTL:125926)
Концентрация мочевины	*CPNE5*	Copine 5	23	10688252	(10631429…10735185)	Коэффициент осеменения на плодотворное зачатие (QTL:212935); Выход молочного белка (QTL:175635)
	OSBPL3	Oxysterol binding protein-like 3	4	71356324	(71296715…71496373)	Толщина подкожного жира (QTL:56147)

Таблица 4 – Сравнительный анализ полногеномных ассоциаций показателями количественного состава молока коров красной горбатовской и красной белорусской пород с учетом их собственной продуктивности

BTA (хромосома)	Порода / ген / признак			
	красный белорусский скот / ген	признак	красная горбатовская порода / ген	признак
1	-	-	PCOLCE2	КЦЖК
			ERG	C14:0
2			UNC80	Казеин, МДБ
3			LRRC8D	C14:0
4	*POU6F2*	ДЦЖК, Мочевина, C18:0	ABCA13	Казеин
	POU6F2	ДЦЖК, Мочевина, C18:0		
	POU6F2	ДЦЖК, Мочевина, C18:0		
	OSBPL3	Мочевина		
	TNS3	ПНЖК		
	UMAD1	БГБ_логарифм		
5	*SYN3*	Ацетон_логарифм	TBC1D22A	Лактоза
			ASIC1	СВ
			NEMP1	Разовый удой
			MYO1A	Разовый удой
6	*BMP2K*	Лактоза	-	-
	KCTD8	Лактоза		
7	*EBF1*	Суточный удой	PDE6A	Казеин, МДБ
			GRIA1	Казеин, МДБ, СОМО
9	-	-	SIM1	Казеин
10	*MYO5A*	СЦЖК	-	-
		ОКСК		
		НЖК		
		Лактоза		
		МДЖ		
		C14:0		
11	*CTNNA2*	Ацетон_логарифм	POLE4	ТЖК
12	-	-	TDRD3	Лактоза

13	-	-	SLC39A12	Разовый удой
			RBL1	Казеин, МДБ
			CTNNBL1	Казеин
14	*PPP1R16A*	НЖК	-	-
15	-	-	CTNNBL1	Казеин
			PDGFD	Казеин, МДБ
17	-	-	RAPGEF2	C14:0
18	-	-	RYR1	Казеин, МДБ, Разовый удой
			CBFA2T3	Лактоза
20	*CTNND2*	ДКСК, ОКСК	C1QTNF3	ТЖК
			CTNND2	ТЖК
			DOCK2	Лактоза
			C1QTNF3	СВ
			CTNND2	СВ
			ANKRD33B	СВ
			ADCY2	СВ
			ARHGEF28	Казеин, МДБ
			ANKRA2	Казеин, МДБ, СОМО
			BTF3	Казеин, МДБ, СОМО
			CDH18	Казеин, МДБ
22	*FAM19A1*	МНЖК, ПНЖК, C18:1	TEX264	C14:0, C16:0, СЦЖК
			TEX264	СВ
			-	-
23	*CPNE5*	Мочевина	-	-
	PKHD1	Кислотность		
	RCAN2	Ацетон_логарифм		

24	-	-	DSG2	ТЖК
25	-	-	AUTS2	C14:0, C16:0, C18:1, СЦЖК, ДЦЖК, НЖК, МНЖК
			LIMK1	C14:0, C16:0, C18:0, C18:1, КЦЖК, СЦЖК, ДЦЖК, НЖК, МНЖК, ПНЖК, ТЖК
			HS3ST2	СЦЖК
			AUTS2	МДЖ
			LIMK1	МДЖ, СВ
27	-	-	RBPMS	казеин, МДБ, СОМО
28	-	-	TSPAN15	КЦЖК, ДЦЖК
29	-	-	STT3A	C14:0
			ACRV1	C14:0
			STT3A	СВ

В исследованиях, проведенных нами ранее полногеномный анализ ассоциаций (GWAS) с жирнокислотным составом молока коров красной горбатовской породы, как вектор нашим сегодняшним исследованиям по животным красного корня, выявил общие кластеры на BTA 9 и 22 - для пальмитиновой и миристиновой ЖК; на BTA 20 - для пальмитиновой, миристиновой и олеиновой ЖК; на BTA 25 - для пальмитиновой, миристиновой, стеариновой и олеиновой ЖК. Обнаружены общие ассоциации, не зависящие от длины цепи жирных кислот и локализованные на хромосоме BTA 25. Группа насыщенных, ненасыщенных ЖК и трансизомеров показывает общие QTL на BTA 8 (кроме НЖК, PUFA), 18 (кроме MUFA), 20 (кроме PUFA) и 25. Для показателей миристиновой ЖК установлены гены, образующие QTL на хромосомах BTA 1, 3, 17, 22, 25, 29: ERG, LRRC8D, RAPGEF2, TEX264, AUTS2, LIMK1, STT3A, ACRV1; для короткоцепочечных ЖК - на хромосомах BTA 1, 13: PCOLCE2, ATRN; для среднецепочечных ЖК - на BTA 25: HS3ST2; для трансизомеров - на хромосомах BTA 11, 20, 24: POLE4, C1QTNF3, CTNND2, DSG2. Следует обратить внимание на то, что для всех типов жирных кислот и трансизомеров определен участок QTL на хромосоме BTA 25 - LIMK1 и AUTS2. Данные гены оказывают плейотропное действие на целый ряд показателей жирных кислот и представляют научный интерес для дальнейшего изучения. Аннотация генов показала сопряженность их с признаками молочного белка (LRRC8D), удоя и скорости доения (LRRC8D, CTNND2), с пигментацией области глаз (ATRN), количеством соматических клеток в молоке (C1QTNF3), восприимчивостью к туберкулезу, содержанием пентадециловой кислоты в молоке и уровнем тироксина (CTNND2), а также с количеством кальция в молоке (HS3ST2) [19].

В таблице 4 приведены сводные результаты анализа тестовых полногеномных ассоциаций для компонентного состава молока коров красного белорусского скота и красной горбатовской породы. Установлено, что на хромосомах 4, 5, 7, 11, 20 и 22 имеются гены, сопряженные и изменчивостью ряда жирных кислот, следов метаболитов, казеина, транс-изомеров

ЖК как для красного белорусского скота, так и красной горбатовской породы коров. На хромосомах 1, 2, 3, 9, 12, 13, 15, 17, 18, 24, 25 и 27-29 были идентифицированы гены и QTL, характерные только для животных красной горбатовской породы. В свою очередь, на хромосомах 6, 10, 14 и 23 были установлены достоверные полиморфизмы, определяющие изменчивость состава молока только для животных красного белорусского скота.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведенные исследования позволили установить комплексную взаимосвязь генетических и фенотипических характеристик красного белорусского скота, определяющих качество молочной продукции. Выявленные ассоциации 12 значимых генов с показателями биохимического и жирнокислотного состава молока демонстрируют плейотропный эффект, особенно гены CTNND2, SEMA5A, FAM19A1, MYO5A и POU6F2, которые влияют на несколько фенотипических признаков одновременно. Установлено, что молоко коров данной породы характеризуется оптимальным жирнокислотным профилем с преобладанием насыщенных жирных кислот при низком содержании трансизомеров, что подтверждает его высокие пищевые качества.

Особую значимость представляют обнаруженные участки на хромосомах (4, 5, 7, 11, 20 и 22), содержащие гены, одновременно влияющие на содержание жирных кислот, метаболитов и казеина, что создает основу для целенаправленной селекционной работы. При этом идентифицированные полиморфизмы на хромосомах 6, 10, 14 и 23, специфичные для красного белорусского скота, открывают новые возможности для маркер-ориентированной селекции.

Полученные данные о взаимосвязи генетических маркеров с показателями белкового и жирового обмена позволяют рекомендовать включение дополнительных биохимических показателей в систему оценки животных. Это возможно обеспечит более эффективную реализацию генетического потенциала стада и позволит контролировать качество молочной продукции на генетическом уровне.

GWAS ANALYSIS OF THE BIOCHEMICAL AND FATTY ACID COMPOSITION OF MILK FROM BELARUSIAN RED CATTLE

Nedashkovsky I.S.[1]* – candidate of biology, senior scientific researcher, Head of the National Catalog Department of the National Center for Genetic Resources of Farm Animals (ORCID 0000-0003-0487-4576); **Sermyagin A.A.**[5] – candidate of agricultural sciences, director All-Russian research institute of genetics and breeding of farm animals (ORCID 0000-0002-1799-6014); **Mikhailova M.E.**[3] – candidate of biology, Head of Laboratory of animal genetics State Scientific Institution “Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus”; **Pesotsky N.I**.[4] – candidate of agricultural sciences, Head of Laboratory of Dairy cattle breeding and selection laboratory; **Sheiko R.I.**[5] **–** doctor of agricultural sciences, professor, corresponding member of the national academy of sciences of Belorus , major scientific researcher State Scientific Institution “Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus”; **Sheiko I.P.** [6] **–** doctor of agricultural sciences, professor, academican of the national academy of sciences of Belorus, Honored Scientist, First Deputy Director General for Research, Scientific and Practical Center for Animal Husbandry of the National Academy of Sciences of Belarus.

[1] L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry

[2]All-Russian Research Institute of Genetics and Breeding of Farm Animals, branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Research Center for Animal Husbandry - VIZh named after Academician L.K.

[3,5] State Scientific Institution “Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus”

[4,6] Republican Unitary Enterprise "Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for

Animal Breeding"

*e-mail: nedashkovsky_is@mail.ru

Financing: *The research was carried out with the support of the Russian Science Foundation, using grant No. 23-46-10002.*

ABSTRACT

A GWAS analysis was conducted to identify single-nucleotide polymorphism markers determining improved milk quality indicators. The final sample consisted of 454 genotypes of individuals: 129 Red Belarusian cattle, 325 Red Gorbatov breed. SNP genotyping was performed using the BovineSNP50 v3.0 biochip (Illumina). The genotype read efficiency averaged 0.979 (call rate). A search for candidate genes was performed in the NCBI database for the Bos_taurus_UMD_3.1.1 genome assembly. The CattleQTLdb database was used to search for QTL. The Bonferroni correction was used to adjust the resulting P value. Milk acidity is within the physiological norm, indicating the stability of protein and lipid metabolism. The freezing point corresponds to standard indicators of high-quality milk. Ketone body levels (acetone 0.08 mmol/L, beta-hydroxybutyrate 0.04 mmol/L) are low, indicating the absence of ketosis issues in the herd. Urea levels (23.29 mg/100 ml) are within the normal range, indicating a balanced protein diet for the animals. High levels of palmitic acid (1.03 g/100 g) are observed as the main component of milk fat, and among the acids, a significant proportion are long-chain (1.83 g/100 g) and medium-chain (1.69 g/100 g) fatty acids. However, the content of polyunsaturated acids (0.13 g/100 g) is low. A genome-wide analysis of milk component composition in Belarusian Red cattle revealed the most significant associations of polymorphisms in 17 genes: *CTNND2, SEMA5A, POU6F2, MYO5A, FAM19A1, TNS3, PPP1R16A, CTNNA2, RCAN2, SYN3, UMAD1, PKHD1, BMP2K, KCTD8, CPNE5, OSBPL3*, and *EBF1*. Moreover, the quantitative trait gene loci *CTNND2, SEMA5A, FAM19A1, MYO5A*, and *POU6F2* are associated with several phenotypic traits. It was established that chromosomes 4, 5, 7, 11, 20, and 22 harbor genes associated with variability in a number of fatty acids, trace metabolites, casein, and trans fatty acid isomers for both Belarusian Red cattle and the Red Gorbatov breed of cows. Genes and QTLs characteristic only of Red Gorbatov cattle were identified on chromosomes 1, 2, 3, 9, 12, 13, 15, 17, 18, 24, 25, and 27-29. Significant polymorphisms were identified on chromosomes 6, 10, 14, and 23, determining variability in milk composition only for Belarusian Red cattle, which can be used for further breeding work.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Гайко, А.А. Красный белорусский скот / А.А. Гайко, С.И. Тузов, М.П. Гринь. – Минск: Ураджай, 1968. – 142 с.

2. Тузов, С.И. Красный белорусский крупный рогатый скот / С.И. Тузов [и др.]. – Минск: Госиздат БССР,1961. – 50 с.

3. Эрнст, Л. К. Красный белорусский скот / [Л. К. Эрнст и др.] //Генетические ресурсы сельскохозяйственных животных в России и сопредельных странах — СПб.: Всерос. НИИ генетики и разведения с.-х. животных, 1994. — 469 с.

4. Павлова, Т. В. Оценка генетического потенциала молочной продуктивности и степени его реализации у коров красно-пестрых пород, завезенных в Республику Беларусь по импорту / Т. В. Павлова [и др.] // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства: сб. науч. тр. Белорусская государственная сельскохозяйственная академия. – Горки: БГСХА, 2018. – Вып. 21, ч. 1. – С. 66–71.

5. Felius, M. On the Breeds of Cattle - Historic and Current Classifications / M. Felius, P.A. Koolmees, B. Theunissen, European Cattle Genetic Diversity Consortium & J.A. Lenstra // Diversity. – 2011. – Vol. 3(4). – P. 660-692. – DOI 10.3390/d3040660. Режим доступа: https://www.mdpi.com/1424-2818/3/4/660

6. Ernst, L.K., Genetic resources of farm animals in Russia and neighboring countries / L.K. Ernst, N.G. Dmitriev, I.A. Paronyan. – St. Petersburg: All-Russian research institute of animal genetics and

breeding, 1994. – 469 p.
7. Zinovieva, N.A. Genome-wide SNP analysis clearly distinguished the Belarusian Red cattle from other European cattle breeds / N.A. Zinovieva, I.P. Sheiko, A.V. Dotsev, R.I. Sheiko, M.E. Mikhailova, A.A. Sermyagin, A.S. Abdelmanova, V.R. Kharzinova, H. Reyer, K. Wimmers, J. Sölkner, N.V. Pleshanov, G. Brem // Animal Genetics. – 2021. – Vol.52. – Issue 5. – P.720-724. – DOI: 10.1111/age.13102 Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34131930/
8.Li, M.-H. The genetic structure of cattle populations (Bos taurus) in northern Eurasia and the neighbouring Near Eastern regions: implications for breeding strategies and conservation. / M.-H. Li, I. Tapio, J. Vilkki, Z. Ivanova, T. Kiselyova, N. Marzanov, M. Cinkulov, S. Stojanović, I. Ammosov, R. Popov, J. Kantanen // Molecular Ecology. 2007. – Vol. 16. – P. 3839–53. – DOI: 10.1111/j.1365-294X.2007.03437.x Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17850550/
9.Kantanen J. Maternal and paternal genealogy of Eurasian taurine cattle (Bos taurus) / J. Kantanen, C.J. Edwards, D.G. Bradley, H. Viinalass, S. Thessler, Z. Ivanova, T. Kiselyova, M. Cinkulov, R. Popov, S. Stojanovic I.Ammosov, J. Vilkki // Heredity. – 2009. – Vol.103. – P. 404–15. – DOI: 10.1038/hdy.2009.68. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19603063/
10.Tiplady M. Kathryn Comparison of the genetic characteristics of directly measured and Fourier-transform mid-infrared-predicted bovine milk fatty acids and proteins / Kathryn M. Tiplady, Thomas J. Lopdell, Richard G. Sherlock, Thomas J.J. Johnson, Richard J. Spelman, Bevin L. Harris, Stephen R. Davis, Mathew D. Littlejohn, Dorian J. Garrick // Journal of Dairy Science. – 2022. – Vol 105(12). – P. 9763-9791. – DOI: doi.org/10.3168/jds.2022-22089 Режим доступа: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030222006142
11.Lewerentz Frida Re-sequencing of the casein genes in Swedish Red cattle giving milk with diverse protein profiles and extreme rennet coagulation properties / Frida Lewerentz, Tytti K. Vanhala, Lene Buhelt Johansen, Marie Paulsson, Maria Glantz, Dirk-Jan de Koning // JDS Communications. – 2024. – Vol. 5(4). – P. 299-304. – DOI: doi.org/10.3168/jdsc.2023-0412 Режим доступа: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666910224000267
12.Benedet A. The use of mid-infrared spectra to map genes affecting milk composition / A. Benedet, P.N. Ho, R. Xiang, S. Bolormaa , M. De Marchi , M.E. Goddard, J.E. Pryce // Journal of Dairy Science. – 2019. – Vol.102(8). – P. 7189-7203. – DOI: doi.org/10.3168/jds.2018-15890 Режим доступа: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030219304850
13.Koncagül S. Genome-wide association study in the Holstein cattle population highlights candidate variants for milk production traits / S. Koncagül , A.Ö. Şen, M. Yıldırır, H. Koyun, E. Ünay, İ. Karakoyunlu, A. Kasakolu // Animal. – 2025. – Vol.19(12). – P. 101694. – DOI: doi.org/10.1016/j.animal.2025.101694 Режим доступа: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751731125002770
14.Тепел, А. Химия и физика молока / А. Тепел. – СПб., 2012. – 571 с.
15. Остроумова, Т. А. Влияние пород скота на состав молока и производство сыра / Т. А. Остроумова, И. В. Иванов // Техника и технология пищевых производств. – 2009. – № 3. – С. 71–74.
16.Chang, C. C. Second-generation PLINK: Rising to the challenge of larger and richer datasets / C.C. Chang, C.C. Chow, L. Tellier et al. // GigaScience. – 2015. – Vol.4. – №7. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25722852/
17.Hu, Z.-L. Bringing the Animal QTLdb and CorrDB into the future: meeting new challenges and providing updated services. / Z.-L. Hu, C.A. Park, J.M. Reecy // Nucleic Acids Research. – 2022, Vol. 50. (D1). – P. D956–D961. – DOI 10.1093/nar/gkab1116 Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34850103/
18.Banerjee, S. Bayesian multiple logistic regression for case-control GWAS / S. Banerjee, L. Zeng, H. Schunkert [et al.] // PLoS Genet. — 2018. — Vol. 14(12). —

DOI: 10.1371/journal.pgen.1007856. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30596640/
19.Нарышкина, Е. Н. Полногеномный анализ ассоциаций с жирнокислотным составом молока коров красной горбатовской породы / Е. Н. Нарышкина, А. А. Сермягин, И. С. Недашковский [и др.] // Молочное и мясное скотоводство. – 2023. – № 6. – С. 3-9. – DOI 10.33943/MMS.2023.44.94.001. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=55928259.

REFERENCES

1.Gaiko, A.A. Red Belarusian cattle / A.A. Gaiko, S.I. Tuzov, M.P. Grin. - Minsk: Urajai, 1968:142 (In Russ.)
2.Tuzov, S.I. Red Belarusian cattle / S.I. Tuzov [et al.]. – Minsk: State Publishing House of the BSSR, 1961:50 (In Russ.)
3.Ernst, L. K. Red Belarusian cattle / [L. K. Ernst et al.] // Genetic resources of agricultural animals in Russia and adjacent countries - St. Petersburg: All-Russian Research Institute of Genetics and Breeding of Agricultural Animals, 1994:469 (In Russ.)
4. Pavlova, T. V. Evaluation of the genetic potential of milk productivity and the degree of its implementation in cows of the red-and-white breeds imported to the Republic of Belarus / T. V. Pavlova [et al.] // Actual problems of intensive development of animal husbandry: collection of scientific papers. Belarusian State Agricultural Academy. - Gorki: BSAA, 2018:21(1):66-71. (In Russ.)
5.Felius, M. On the Breeds of Cattle - Historic and Current Classifications / M. Felius, P.A. Koolmees, B. Theunissen, European Cattle Genetic Diversity Consortium & J.A. Lenstra // Diversity. 2011:3(4):660-692. – DOI 10.3390/d3040660. URL: https://www.mdpi.com/1424-2818/3/4/660
6.Ernst, L.K., Genetic resources of farm animals in Russia and neighboring countries / L.K. Ernst, N.G. Dmitriev, I.A. Paronyan. – St. Petersburg: All-Russian research institute of animal genetics and breeding, 1994:469
7.Zinovieva, N.A. Genome-wide SNP analysis clearly distinguished the Belarusian Red cattle from other European cattle breeds / N.A. Zinovieva, I.P. Sheiko, A.V. Dotsev, R.I. Sheiko, M.E. Mikhailova, A.A. Sermyagin, A.S. Abdelmanova, V.R. Kharzinova, H. Reyer, K. Wimmers, J. Sölkner, N.V. Pleshanov, G. Brem // Animal Genetics. 2021:52(5):720-724. – DOI: 10.1111/age.13102 URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34131930/
8.Li, M.-H. The genetic structure of cattle populations (Bos taurus) in northern Eurasia and the neighbouring Near Eastern regions: implications for breeding strategies and conservation. / M.-H. Li, I. Tapio, J. Vilkki, Z. Ivanova, T. Kiselyova, N. Marzanov, M. Cinkulov, S. Stojanović, I. Ammosov, R. Popov, J. Kantanen // Molecular Ecology. 2007:16:3839–53. – DOI: 10.1111/j.1365-294X.2007.03437.x URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17850550/
9.Kantanen, J. Maternal and paternal genealogy of Eurasian taurine cattle (Bos taurus) / J. Kantanen, C.J. Edwards, D.G. Bradley, H. Viinalass, S. Thessler, Z. Ivanova, T. Kiselyova, M. Cinkulov, R. Popov, S. Stojanovic I.Ammosov, J. Vilkki // Heredity. 2009:103:404-15. – DOI: 10.1038/hdy.2009.68. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19603063/
10.Tiplady M. Kathryn Comparison of the genetic characteristics of directly measured and Fourier-transform mid-infrared-predicted bovine milk fatty acids and proteins / Kathryn M. Tiplady, Thomas J. Lopdell, Richard G. Sherlock, Thomas J.J. Johnson, Richard J. Spelman, Bevin L. Harris, Stephen R. Davis, Mathew D. Littlejohn, Dorian J. Garrick // Journal of Dairy Science. – 2022. – Vol 105(12). – P. 9763-9791. – DOI: doi.org/10.3168/jds.2022-22089 URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030222006142
11.Lewerentz Frida Re-sequencing of the casein genes in Swedish Red cattle giving milk with diverse protein profiles and extreme rennet coagulation properties / Frida Lewerentz, Tytti K. Vanhala, Lene Buhelt Johansen, Marie Paulsson, Maria Glantz, Dirk-Jan de Koning // JDS Communications. – 2024. – Vol. 5(4). – P. 299-304. – DOI: doi.org/10.3168/jdsc.2023-0412 URL: https://www.sciencedirect.com/science/

article/pii/S2666910224000267
12.Benedet A. The use of mid-infrared spectra to map genes affecting milk composition / A. Benedet, P.N. Ho, R. Xiang, S. Bolormaa , M. De Marchi , M.E. Goddard, J.E. Pryce // Journal of Dairy Science. – 2019. – Vol.102(8). – P. 7189-7203. – DOI: doi.org/10.3168/jds.2018-15890 URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030219304850
13.Koncagül S. Genome-wide association study in the Holstein cattle population highlights candidate variants for milk production traits / S. Koncagül , A.Ö. Şen, M. Yıldırır, H. Koyun, E. Ünay, İ. Karakoyunlu, A. Kasakolu // Animal. – 2025. – Vol.19(12). – P. 101694. – DOI: doi.org/10.1016/j.animal.2025.101694 URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751731125002770
14.Tepel, A. Chemistry and physics of milk / A. Tepel. - St. Petersburg, 2012:571(In Russ.)
15.Ostroumova, T.A. Influence of breed of cattle on structure of milk and manufacture of cheese / T.A. Ostroumova, I.V. Ivanov // Food Processing: Techniques and Technology. 2009:3:71–74. (In Russ.)
16.Chang, C. C. Second-generation PLINK: Rising to the challenge of larger and richer datasets / C.C. Chang, C.C. Chow, L. Tellier et al. // GigaScience. 2015:4(7). URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25722852/
17.Hu, Z.-L. Bringing the Animal QTLdb and CorrDB into the future: meeting new challenges and providing updated services. / Z.-L. Hu, C.A. Park, J.M. Reecy // Nucleic Acids Research. 2022:50:D956–D961. – DOI 10.1093/nar/gkab1116 URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34850103/
18.Banerjee, S. Bayesian multiple logistic regression for case-control GWAS / S. Banerjee, L. Zeng, H. Schunkert [et al.] // PLoS Genet. 2018:14(12). — DOI: 10.1371/journal.pgen.1007856. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30596640/
19.Naryshkina, E.N. Genome-wide analysis associations for fatty acids composition in cow's milk of red gorbatov breed / E.N. Naryshkina, A.A. Sermyagin, I.S. Nedashkovsky, I.A. Lashneva, M.E. Mikhailova, D.V. Todua, N.A. Zinovieva // Journal of Dairy and Beef Cattle Farming. 2023:6:3-9. – DOI 10.33943/MMS.2023.44.94.001. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=55928259 (In Russ.)

АКУШЕРСТВО, ГИНЕКОЛОГИЯ

УДК: 619:615.36:575.224.46
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.468

ВЛИЯНИЕ КРИОФРАКЦИЙ СЕЛЕЗЕНКИ И ПЛАЦЕНТЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА НА ЧАСТОТУ ДОМИНАНТНЫХ ЛЕТАЛЬНЫХ МУТАЦИЙ У МЫШЕЙ В УСЛОВИЯХ ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Востроилова Г.А. – д-р биол. наук, глав. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-2960-038X); **Шабунин С.В. –** д-р ветеринар. наук, акад. РАН, науч. рук. института (ORCID 0000-0002-2689-6998); **Шабанов Д.И.** * – науч. сотр. (ORCID 0000-0002-1574-1317); **Хохлова Н.А.** – канд. ветеринар. наук, стар. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-6861-2554); **Корчагина А.А.** – канд. ветеринар. наук, стар. науч. сотр. (ORCID ID 0000-0002-8561-417X); **Некрасов А.В.** – стар. лаб. (ORCID ID 0000-0002-5957-1583).

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

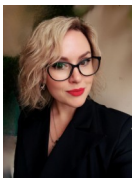
* am7d@mail.ru

Ключевые слова: *криофракции селезенки, криофракции плаценты, доминантные летальные мутации, циклофосфамид, лабораторные мыши.*

Key words: *spleen cryofractions, placenta cryofractions, dominant lethal mutations, cyclophosphamide, laboratory mice.*

Финансирование: *Материалы подготовлены в рамках конкурса Российского научного фонда 2023 года ««Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований малыми отдельными научными группами»» (соглашение № 24-26-00034 от 29.12.2023 г). https://rscf.ru/project/24-26-00034/.*

Поступила: 18.09.2025 **Принята к публикации: 07.11.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025



РЕФЕРАТ

Целью работы явилось изучение влияния ГКСК, ЛКСК и ЛКСПК на частоту доминантных летальных мутаций (ДЛМ) у мышей в условиях генотоксического действия экспериментального мутагена – циклофосфамида (ЦФ). Для работы были сформированы одиннадцать групп беспородных мышей по 6 самцов и 36 самок в каждой группе. ГКСК, ЛКСК и ЛКСПК вводили внутримышечно однократно самцам в дозе 0,5 мл/кг отдельно или совместно с внутрибрюшинным введением ЦФ в дозе 60 мг/кг. Также исследуемые фармацевтические субстанции вводили трехкратно с интервалом 24 ч перед введением ЦФ в дозах аналогичных однократному введению. Для исследования ДЛМ к самцам подсаживали мышей-самок трехкратно с интервалом в неделю. На 15-17 день после подсадки к самцам бере-

менных самок выводили из эксперимента, проводили вскрытие и определяли частоту постимплантационной смертности (ЧПС) эмбрионов, которая коррелирует с повреждением сперматозоидов, зрелых и незрелых сперматид у самцов. Величину ЧПС в экспериментальных группах сравнивали с таковой относительно групп негативного и позитивного контроля. Однократное и курсовое применение ГКСК самцам мышей с цитогенетической нестабильностью, индуцированной ЦФ, приводило к снижению кластогенного повреждения ЦФ сперматозоидов и поздних сперматид. Курсовое введение ЛКСК и ЛКСПК самцам мышей перед инъекцией ЦФ индуцировало значимое снижение постимплантационной смертности эмбрионов мышей, что свидетельствует об уменьшении мутагенного действия ЦФ по отношению к зрелым сперматозоидам. Таким образом, ГКСК, ЛКСК и ЛКСПК оказывали антимутагенное действие на половые клетки самцов мышей в условиях индуцированной ЦФ цитогенетической нестабильности.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Современная сельскохозяйственная деятельность часто связана с высокой нагрузкой на организм продуктивных животных. Помимо этого, антропогенное влияние приводит к распространению в окружающей среде веществ – поллютантов. Высокий уровень технологического стресса и содержание в условиях экологического неблагополучия увеличивают риск повреждения генетической информации в клетках продуктивных животных [1]. Особую опасность представляет нарушение цитогенетической стабильности в половых клетках, поскольку накопление нарушений в их геноме может становиться причиной снижения фертильности животных, а также появления заболеваний и гибели их потомства, потери хозяйственных признаков пород [1, 2]. Одним из последствий повреждения генетической информации в гаметах являются доминантные летальные мутации (ДЛМ), которые возникают у эмбрионов животных. Как правило, они связаны с нарушением числа хромосом или возникновением хромосомных аберраций, реже генных мутаций в клетках [3]. В результате возникновения таких повреждений наблюдается гибель потомства в перинатальном периоде. Так у коров значительную долю случаев абортирования плодов связывают с возникновением хромосомных аберраций в половых клетках, которые индуцируют ДЛМ [2, 4, 5]. Уменьшения количества поросят в опоросе у свиней также может быть связано с ДЛМ, индуцированными повреждением хромосом в половых клетках родителей [2]. Одной из стратегий поддержания генетической стабильности клеток животных является применение соединений с антимутагенными, антигенотоксическими свойствами. В предыдущих исследованиях нами было показано антимутагенное действие фармацевтических субстанций полученных с использованием гидрофильной криофракции селезенки КРС (ГКСК), липофильной криофракции селезенки КРС (ЛКСК) и смеси липофильных криофракций селезенки и плаценты КРС (ЛКСПК), которые снижали частоту микроядер в костном мозге, а также уменьшали повреждение митохондриальной ДНК в печени мышей в условиях действия генотоксиканта [6, 7]. Однако половые клетки защищены гематотестикулярным или гематоовариальный барьером, поэтому воздействие различных веществ на них, может обладать некоторыми особенностями и требует отдельного исследования [8]. Кроме того, снижение количества ДЛМ у продуктивных животных может являться конечной целью применения антигенотоксикантов. Это обуславливает необходимость изучения влияния исследуемых фармацевтических субстанций на половые клетки животных.

Поэтому **целью** нашей работы явилось исследование влияния гидрофильной и липофильной криофракций селезенки, а также смеси липофильной криофракции селезенки и плаценты крупного рогатого скота на частоту доминантных летальных мутаций у мышей в условиях генотоксического действия экспериментального мутагена – циклофосфамида.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объектом исследования служили ГКСК, ЛКСК и ЛКСПК, полученные в лаборатории доклинических исследований и моделирования биологических систем ФГБНУ «ВНИВИПФиТ». В качестве экспериментального генотоксиканта использовали «Эндоксан®» («Baxter Oncology GmbH», Германия), содержащий в своем составе в качестве действующего вещества циклофосфамида моногидрат (ЦФ), обладающий доказанным токсическим и мутагенным действием по отношению к сперматозоидам [8, 9]. Экспериментальную работу проводили в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» и требованиями действующих международных и российских законодательных актов [8]. Дизайн эксперимента предварительно был одобрен Комиссией по биоэтике института.

Обычно мутагенный эффект соединений проявляется в виде повышенной эмбриональной смертности. Для оценки величины ДЛМ рекомендуется изучение влияния исследуемых веществ на сперматозоиды. Если сперматозоид, несущий доминантную леталь, оплодотворяет яйцеклетку, это приводит к гибели эмбриона [8]. В эксперименте участвовало 66 самцов и 396 виргинных самок белых лабораторных беспородных мышей. Самцов и самок массой 26,0±4,0 г разделили на 11 экспериментальных групп (таблица 1): по 6 самцов для введения исследуемых веществ и по 36 самок для оценки ДЛМ в каждой группе.

Таблица 1 – Экспериментальные группы мышей

Группа	Применяемые препараты	Дозы	Способ введения	Кратность введения
I (негативный контроль)	Изотонический раствор NaCl	0,1 мл	Внутримышечно	Однократно
II	ГКСК	0,5мл/кг	Внутримышечно	Однократно
III	ЛКСК	0,5мл/кг	Внутримышечно	Однократно
IV	ЛКСПК	0,5мл/кг	Внутримышечно	Однократно
V (позитивный контроль)	ЦФ	60 мг/кг	Внутрибрюшинно	Однократно
VI	ГКСК	0,5мл/кг	Внутримышечно	Однократно
	ЦФ	60,0 мг/кг	Интраперитонеально	Однократно
VII	ЛКСК	0,5мл/кг	Внутримышечно	Однократно
	ЦФ	60,0 мг/кг	Интраперитонеально	Однократно
VIII	ЛКСПК	0,5мл/кг	Внутримышечно	Однократно
	ЦФ	60,0 мг/кг	Интраперитонеально	Однократно
IX	ГКСК	0,5мл/кг	Внутримышечно	Трехкратно
	ЦФ	60,0 мг/кг	Интраперитонеально	Однократно
X	ЛКСК	0,5мл/кг	Внутримышечно	Трехкратно
	ЦФ	60,0 мг/кг	Интраперитонеально	Однократно
XI	ЛКСПК	0,5мл/кг	Внутримышечно	Трехкратно
	ЦФ	60,0 мг/кг	Интраперитонеально	Однократно

Примечание: многократное введение препаратов проводили с интервалом в 24 ч; ЦФ вводили совместно с последней инъекцией исследуемой субстанции.

После введения препаратов к самцам мышей экспериментальных групп в индивидуальные клетки сажали по 2 самки на каждого самца. Самок меняли каждые 7 дней трехкратно. Эмбриональная смертность плодов у самок, забеременевших в 1-ю неделю после введения химического вещества (первая подсадка), свидетельствовала о мутационных событиях, произошедших в зрелых сперматозоидах; на 2-ю неделю соответствовала поздним сперматидам (вторая подсадка), и на 3 -ю неделю — ранним и средним сперматидам (третья подсадка) [8].

Самок выводили из эксперимента на 15–17 день беременности с помощью передозировки углекислого газа в специальной камере. Большая часть доминантных леталей вызывает смерть эмбрионов при имплантации или вскоре после неё. Животных вскрывали и учитывали количество живых и погибших эмбрионов. Для оценки влияния фармакологических субстанций на кластогенное действие ЦФ использовали постимплантационную смертность, которую определяли как долю мертвых эмбрионов относительно суммарного количества живых и мертвых эмбрионов. Также учитывали долю забеременевших самок в каждой группе (фертильность, %) и среднюю частоту доминантных леталей (ЧДЛ), которая дополнительно учитывает доимплантационную смертность (формула 1), % [3].

$$\text{ЧДЛ} = \left(1 - \frac{\text{Аэ}}{\text{Ак}}\right) \times 100\%, \quad \text{(Формула 1)}$$

где:

Аэ – среднее количество живых эмбрионов на самку в экспериментальной группе;

Ак – среднее количество живых эмбрионов на самку в группе негативного контроля (группа I).

Статистическую обработку данных проводили с использованием попарного U-теста Манна-Уитни с помощью программы STATISTICA 10 (StatSoft, USA). Различия в выборках считали статистически значимыми при уровне значимости $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В ходе работы нами были изучены показатели фертильности самок, частоты постимплантационной смертности и ЧДЛ эмбрионов, полученных при скрещивании с самцами экспериментальных групп (Таблица 2).

Самки мышей, скрещенных с самцами из группы негативного контроля, характеризовались высокой фертильностью (91,7 – 83,7 %) и низкой ЧПС (0,01 – 0,02), которые колебались в этих пределах на всех стадиях эксперимента. Введение ГКСК, ЛКСК и ЛКСПК самцам из групп II-IV не приводило к значимому увеличению ЧПС эмбрионов как после первой, так и после второй и третьей подсадки самок к самцам. ЧДЛ у мышей из этих групп также менялась не значительно (от -2,8 до 4,4%) относительно группы негативного контроля. Таким образом, отдельное введение исследуемых фармацевтических субстанций не оказывало значимого повреждающего действия на сперматозоиды и сперматиды в ходе эксперимента.

Введение ЦФ в дозе 60 мг/кг индуцировало цитогенетическую нестабильность в сперматозоидах и сперматидах мышей, которая приводила к статистически значимому увеличению ЧПС эмбрионов, полученных от первой до третьей подсадки самок в 18,5, 31 и 21 раз ($p<0,05$), соответственно, относительно группы негативного контроля. Величина ЧДЛ также возрастала до 40,2, 30,4 и 23,2% с первой по третью подсадку, соответственно. Снижалась и фертильность самок из группы V до 66,6 – 75,5%.

Однократное введение ГКСК самцам группы VI индуцировало уменьшение повреждения зрелых сперматозоидов и поздних сперматид ЦФ. Так наблюдалось значимое снижение ЧПС на 91,9 и 68,8 % относительно группы V. ЧДЛ у самок первой подсадки к самцам (воздействие на зрелые сперматозоиды) в группе VI была на 90,5 % ниже таковой у мышей из группы V и приближалась к показателям группы негативного контроля. Однократное введение ЛКСПК мышам из группы VIII также индуцировало значимое сни-

жение ЧПС на 70,3% относительно группы позитивного контроля (группа V).

При курсовом применении всех исследуемых фармацевтических субстанций самцам с индуцированной ЦФ цитогенетической нестабильностью (группы IX, X и XI) обнаружено уменьшение повреждения генетической информации в сперматозоидах, которое выявлялось по значимому снижению ЧПС на 75,7, 81,1 и 75,7% относительно группы позитивного контроля (группа V), соответственно. При этом величина ЧДЛ также снижалась до показателей, близких к таковым у животных из группы негативного контроля (группа I).

Таблица 2 – Влияние исследуемых субстанций на доминантные летальные мутации у мышей в условиях воздействия циклофосфамида

Группа	Стадия сперматогенеза	Фертильность, %	Частота постимплантационной смертности эмбрионов	Частота доминантных леталей, %
I	1	91,7	0,02±0,013	0,0
	2	83,3	0,01±0,011	0,0
	3	91,7	0,01±0,012	0,0
II	1	91,7	0,03±0,014	-2,8
	2	91,7	0,03±0,021	2,7
	3	83,3	0,03±0,026	4,4
III	1	91,7	0,02±0,012	1,9
	2	83,3	0,03±0,018	0,0
	3	83,3	0,01±0,009	1,3
IV	1	83,3	0,00±0,000	-0,8
	2	83,3	0,03±0,018	3,0
	3	83,3	0,03±0,019	-1,8
V	1	66,6	0,37±0,059*	40,2
	2	75,0	0,32±0,072*	30,4
	3	75,0	0,21±0,066*	23,5
VI	1	75,0	0,03±0,029^{+}	3,8
	2	75,0	0,10±0,046^{+}	27,1
	3	75,0	0,11±0,054	10,9
VII	1	75,0	0,34±0,051*	37,8
	2	83,3	0,33±0,048*	32,3
	3	83,3	0,17±0,044*	21,9
VIII	1	66,7	0,11±0,040*$^{+}$	18,52
	2	75,0	0,3±0,078*	19,2
	3	66,7	0,19±0,042*	21,6
IX	1	83,3	0,09±0,035^{+}	4,3
	2	83,3	0,09±0,034*$^{+}$	17,2
	3	83,3	0,09±0,039	8,5
X	1	75,0	0,07±0,037^{+}	0,4
	2	66,7	0,09±0,065*	4,0
	3	75,0	0,11±0,045	9,8
XI	1	83,3	0,09±0,035*$^{+}$	6,1
	2	66,7	0,18±0,053*	28,03
	3	58,3	0,13±0,044*	10,41

*Примечание: I-XI – экспериментальные группы (описание в тексте); 1 – зрелые сперматозоиды; 2 – поздние сперматиды; 3 – ранние сперматиды; * - статистически значимое отличие от группы I при $p<0,05$; $^{+}$ - статистически значимое отличие от группы V при $p<0,05$.*

Также в группе IX нами было выявлено статистически значимое уменьшение ЧПС на 71,9 % относительно группы V после второй подсадки самок, что указывает на снижение повреждения поздних сперматид циклофосфамидом при курсовом внутримышечном введении ГКСК.

Генотоксическое действие ЦФ на клетки гонад может проявляться различными механизмами. Основными причинами повреждения клеток ЦФ считают алкилирующее действие метаболитов ЦФ, а также индукцию окислительного стресса в организме, которые приводят к образованию сшивок ДНК и белков, образованию поврежденных нуклеотидов, одиночных и двойных разрывов цепи ДНК. Эти повреждения вызывают нарушения репликации, репарации и транскрипции ДНК, изменение активности и специфичности работы ферментов, что в конечном итоге приводит к гибели клеток, преимущественно путем апоптоза [10]. В репродуктивных клетках ЦФ оказывает дополнительное генотоксическое действие, ингибируя фермент топоизомеразу II, который ответственен за релаксацию и распутывание ДНК, что может приводить к повышению количества разрывов нуклеотидной цепи [11]. Другими токсическими факторами является нарушение ЦФ функций митохондрий и активация MAPK (mitogen-activated protein kinase – митоген -активируемая протеинкиназа) путей клеточной регуляции, которые играют решающую роль в дифференцировке, пролиферации и апоптозе половых клеток [12]. Также под действием ЦФ наблюдается снижение продукции тестостерона и люteинезирующего гормона, вызывая уменьшение фертильности животных [13].

В условиях эксперимента все исследуемые фармацевтические субстанции индуцировали снижение ЧПС и ЧДЛ у самцов, которым вводили ЦФ в дозе 60 мг/кг. При этом ГКСК и ЛКСПК снижали уровень ДЛМ уже при первом введении. Следует отметить, что защитный эффект ЛКСК и ЛКСПК проявлялся только по отношению к сперматозоидам, в то время как однократное и курсовое введение ГКСК приводило к снижению повреждения у сперматозоидов и зрелых сперматид.

Интересно, что воздействие ЦФ на зрелые сперматозоиды и их предшественники проявлялось неодинаково. Хотя нами не было выявлено статистически значимых отличий ЧПС у мышей-самок разных подсадок при введении самцам ЦФ (группа V), литературные данные свидетельствуют о наибольшем повреждении ЦФ незрелых форм сперматид, относительно более дифференцированных клеток [12]. Зрелые сперматозоиды и поздние сперматиды в ходе дифференцировки формируют антиоксидантные защитные системы, которые выступают ключевым фактором защиты от ЦФ-индуцированного окислительного стресса и цитотоксичности [12]. Таким образом, уменьшение генотоксического повреждения сперматозоидов и сперматид исследуемыми фармацевтическими субстанциями, определяемое по снижению ЧПС может быть в большей степени обусловлено модулирующем действием ГКСК, ЛКСК и ЛКСПК на системы антиоксидантной защиты организма животных. В подтверждение этого свидетельствуют данные о снижении окислительного стресса и стимуляции антиоксидантной системы у животных, получивших фармацевтические субстанции, содержащие экстракты селезенки, иммунокомпетентных клеток и плаценты животных [14, 15]. Так курсовое введение ГКСК индуцировало снижение уровня внутриклеточных активных форм кислорода в костном мозге мышей после введения ЦФ [16]. Применение препарата, содержащего ГКСК, вызывало увеличение активности каталазы и глутатионпероксидазы и снижение концентрации малонового диальдегида в крови свиней с угнетенным состоянием системы антиоксидантной защиты [17]. Липофильные фракции тканей крупного рогатого скота содержали витамины А и Е, обладающие антиоксидантным действием [14]. Эти данные свидетельствуют об антиоксидантном эффекте ГКСК, ЛКСК и

ЛКСПК, который может являться причиной снижения генотоксического, кластогенного повреждения половых клеток ЦФ.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Отдельное внутримышечное введение ГКСК, ЛКСК и ЛКСПК не вызывало увеличения частоты доминантных летальных мутаций у эмбрионов мышей. Однократное и курсовое применение ГКСК самцам мышей с цитогенетической нестабильностью индуцированной ЦФ, приводило к снижению кластогенного повреждения сперматозоидов и поздних сперматид ЦФ, которое было выявлено по снижению уровня пренатальной гибели эмбрионов мышей. Курсовое введение ЛКСК и ЛКСПК самцам мышей перед инъекцией ЦФ индуцировало значимое снижение постимплантационной смертности эмбрионов мышей, что свидетельствует об уменьшении мутагенного действия ЦФ по отношению к зрелым сперматозоидам. Таким образом, ГКСК, ЛКСК и ЛКСПК оказывали антимутагенное действие на половые клетки мышей-самцов в условиях индуцированной ЦФ цитогенетической нестабильности. Антикластогенный эффект исследуемых субстанций, вероятно, проявлялся благодаря антиоксидантному действию субстанций.

EFFECT OF CRYOFRACTIONS OF CATTLE SPLEEN AND PLACENTA ON THE FREQUENCY OF DOMINANT LETHAL MUTATIONS IN MICE UNDER CONDITIONS OF GENOTOXIC EXPOSURE

Vostroilova G.A. – doctor of Biological Sciences, Chief Researcher (ORCID 0000-0002-2960-038X); **Shabanov D.I.** * – Researcher (ORCID 0000-0002-1574-1317); **Khokhlova N. A.** – candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher (ORCID 0000-0001-6861-2554); **Korchagina A. A.** – candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher (ORCID 0000-0002-8561-417X); **Nekrasov A. V.** – Senior Laboratory Assistant (ORCID 0000-0002-5957-1583)

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

*am7d@mail.ru

Financing: *The materials were prepared within the framework of the 2023 Russian Science Foundation competition "Conducting fundamental scientific research and exploratory scientific research by small individual scientific groups" (agreement No. 24-26-00034 dated 12/29/2023). https://rscf.ru/project/24-26-00034/.*

ABSTRACT

The aim of the work was to study the effect of HCBS, LCBS and LCBSP on the frequency of dominant lethal mutations (DLM) in mice under the genotoxic effect of the experimental mutagen - cyclophosphamide (CP). Eleven groups of outbred mice were formed for the work, 6 males and 36 females in each group. HCBS, LCBS and LCBSP were administered intramuscularly to males once at a dose of 0.5 ml/kg separately or together with intraperitoneal administration of CP at a dose of 60 mg/kg. The studied pharmaceutical substances were also administered three times with an interval of 24 hours before the administration of CP in doses similar to a single administration. To study DLM, female mice were implanted with males three times with an interval of one week. On the 15-17th day after implantation with males, pregnant females were removed from the experiment, autopsied and the frequency of postimplantation mortality (PIM) of embryos was determined, which correlates with damage to spermatozoa, mature and immature spermatids in males. The value of PIM in the experimental groups was compared with that of the negative and positive control groups. Single and course administration of HCBS to male mice with CP-induced cytogenetic instability resulted in decreased clastogenic damage to spermatozoa and late spermatids by CP. Course administration of LCBS and LCBSP to male mice before CP injection induced a significant decrease in postimplantation mortality of mouse embryos, indicating a decrease in the mutagenic effect of CP on mature spermatozoa. Thus, HCBS, LCBS, and LCBSP exerted an antimutagenic effect on germ

cells of male mice under conditions of CP-induced cytogenetic instability.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Kumaresan, A. Sperm DNA Integrity and Male Fertility in Farm Animals: A Review / A., Kumaresan, M., Das Gupta, T.K., Datta, J.M., Morrell, // Frontiers in veterinary science. – 2020. – Vol.7. – 321. – DOI 10.3389/fvets.2020.00321. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32637425/.
2. Raudsepp. T., Chowdhary BP. Chromosome Aberrations and Fertility Disorders in Domestic Animals / T., Raudsepp, B.P., Chowdhary, // Annual review of animal biosciences. – 2016. – Vol.4. – P.15-43. - DOI 10.1146/annurev-animal-021815-111239. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26884101/.
3. Бекетова, Д.Д. Анализ мутагенной активности. Тест по учету доминантных летальных мутаций у млекопитающих / Д. Д. Бекетова, К. Л. Крышень, А. Е. Касторнова, А.А. Ацапкина, М.Н. Макарова, В.Г. Макаров // Международный вестник ветеринарии. – 2014. – № 3. – С. 95-104. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=22307726
4. Yılmaz, Ö.F. Some reproductive defects in farm animals / Ö.F., Yılmaz, M.A., Çam // Black Sea Journal of Agriculture. – 2025. – Vol. 8(1). – P. 118-123. Режим доступа: https://dergipark.org.tr/en/pub/bsagriculture/issue/88938/1593697.
5. Andrade, M.F. Embryonic and Fetal Mortality in Dairy Cows: Incidence, Relevance, and Diagnosis Approach in Field Conditions/ M.F., Andrade, J., Simões, // Dairy. – 2024. – Vol. 5. – P. 526-541. DOI 10.3390/dairy5030040. Режим доступа: https://doi.org/10.3390/dairy5030040.
6. Востроилова, Г.А. Исследование антимутагенного действия гидрофильной криофракции селезенки крупного рогатого скота / Г. А. Востроилова, С. В. Шабунин, Д. И. Шабанов, Хохлова Н. А., Корчагина А. А., М. Ю.Сыромятников, А. В. Некрасов, М. А. Селютина, Д. Д. Морозова // Сельскохозяйственная биология. – 2024. – Т. 59.- № 6. – С. 1192-1203. – DOI 10.15389/agrobiology.2024.6.1192rus. – Режим доступа: https://agrobiology.ru/6-2024vostroilova.html.
7. Востроилова, Г.А., Исследование влияния липофильных криофракций селезенки и плаценты крупного рогатого скота на мышей в условиях генотоксического действия митомицина / Г. А. Востроилова, Д. И. Шабанов, Н. А. Хохлова, А. А. Корчагина, А. В. Некрасов, М. Ю. Сыромятников, Н. А. Стрельников // Аграрная наука. – 2025. – Т. 398(09). – С. 22–29. – DOI 10.32634/0869-8155-2025-398-09-22-29. Режим доступа: https://www.vetpress.ru/jour/issue/current.
8. Миронов, А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. А.Н. Миронова. – Москва, Издательство: "Гриф и К", 2012. – 944с. Режим доступа: https://rsmu.ru/fileadmin/templates/DOC/Zakon_RF/Mironov_Rukovodstvo_po_provedeniju_doklinicheskikh_issledovanii_lekarstvennykh_sredstv.pdf.
9. Лапин, К.Н. Влияние циклофосфамида на репродуктивную систему крыс-самцов / К. Н. Лапин, И. А. Рыжков, Н. М. Захарова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2020. – Т. 83. - № 11. – С. 16-19. – DOI 10.30906/0869-2092-2020-83-11-16-19. – Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=44315493.
10. Voelcker G. The Mechanism of Action of Cyclophosphamide and Its Consequences for the Development of a New Generation of Oxazaphosphorine Cytostatics / G. Voelcker // Scientia Pharmaceutica. - 2020. – Vol. 88(4). - 42. DOI 10.3390/scipharm88040042. - Режим доступа: https://www.mdpi.com/2218-0532/88/4/42.
11. Spears N. Ovarian damage from chemotherapy and current approaches to its protection / N., Spears, F., Lopes, A., Stefansdottir, V., Rossi, M., De Felici, R.A., Anderson, F.G., Klinger, // Human reproduction update. – 2019. – Vol. 25(6). – P. 673-693. - DOI 10.1093/humupd/dmz027. - Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31600388/.
12. Olowe, T.G. Cytotoxic Properties of Cyclophosphamide: A Focus on Its Mecha-

nistic Impacts on Male Gonadal Functions / T.G., Olowe, M.O., Oyovwi, K.E., Nwangwa, E.P., Ohwin, O.B. Oghenetega, // J Explor Res Pharmacol. – 2024. – Vol. 9(2). – P. 106–115. - DOI 10.14218/JERP.2023.00025S. - Режим доступа: https://www.xiahepublishing.com/2572-5505/JERP-2023-00025S

13. Ebokaiwe A.P. Cyclophosphamide-induced testicular oxidative-inflammatory injury is accompanied by altered immunosuppressive indoleamine 2, 3-dioxygenase in Wister rats: Influence of dietary quercetin / A.P., Ebokaiwe, D.O., Obasi, R.C., Njoku, S. Osawe, // Andrologia. – 2022. – Vol. 54 (3). - e14341. DOI 10.1111/and.14341. Режим доступа: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/and.14341.

14. Шабунин С.В., Беляев В.И., Востроилова Г.А., Кабицкий С.Н. Органопрепараты (лекарственные препараты из органов и тканей животных). Воронеж, 2013.; Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=26618629&ysclid=mfmhl8wtge466492286

15. Kawakatsu M., Placental extract protects bone marrow-derived stem/progenitor cells against radiation injury through anti-inflammatory activity. / M., Kawakatsu, Y., Urata, S., Goto, Y., Ono, T. S. Li, // Journal of Radiation Research. – 2013. – Vol. 54(2). – P 268-276. – DOI 10.1093/jrr/rrs105. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23154884/.

16. Шабанов, Д. И. Исследование цитогенетической стабильности костного мозга мышей в условиях применения гидрофильной криофракции селезенки крупного рогатого скота / Д. И. Шабанов // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2024. – № 4(29). – С. 36-43. – DOI 10.17238/issn2541-8203.2024.4.36. – Режим доступа: http://en.vfvrn.ru/netcat_files/6/2/VFV_2024_4_29_.pdf.

17. Шабунин С.В. Влияние аминоселетона на состояние прооксидантной и антиоксидантной систем крови у свиноматок / С. В. Шабунин, А. Г. Шахов, Г. А. Востроилова, П. А.Паршин, Т. Г. Ермолова, Н. А. Хохлова, Г. Н. Близнецова //. Достижения науки и техники АПК. – 2019. – Т. 33(7). – С. 71-74. - DOI 10.24411/0235-2451-2019-10716. - Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=39205932.

REFERENCES

1. Kumaresan, A. Sperm DNA Integrity and Male Fertility in Farm Animals: A Review./ A., Kumaresan, M., Das Gupta, T.K., Datta, J.M., Morrell, // Frontiers in veterinary science. 2020: 7: 321. DOI 10.3389/fvets.2020.00321. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32637425/.

2. Raudsepp. T., Chowdhary BP. Chromosome Aberrations and Fertility Disorders in Domestic Animals / T., Raudsepp, B.P., Chowdhary // Annual review of animal biosciences. 2016: 4: 15-43. DOI 10.1146/annurev-animal-021815-111239. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26884101/.

3. Beketova, D.D. Analysis of mutagenic activity. Test for accounting of dominant lethal mutations in mammals / D. D. Beketova, K. L. Kryshen, A. E. Kastornova, A. A. Atsapkina, M. N. Makarova, V. G. Makarov // International Bulletin of Veterinary Science. 2014: 3: 95-104. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=22307726.

4. Yılmaz, Ö.F. Some reproductive defects in farm animals / Ö.F., Yılmaz, M.A., Çam // Black Sea Journal of Agriculture. 2025: 8 (1): 118-123. URL: https://dergipark.org.tr/en/pub/bsagriculture/issue/88938/1593697.

5. Andrade, M.F. Embryonic and Fetal Mortality in Dairy Cows: Incidence, Relevance, and Diagnosis Approach in Field Conditions/ M.F., Andrade, J., Simões, // Dairy. 2024: 5: 526-541. DOI 10.3390/dairy5030040. URL: https://doi.org/10.3390/dairy5030040.

6. Vostroilova, G.A. Study of the antimutagenic effect of hydrophilic cryofraction of cattle spleen / G. A. Vostroilova, S. V. Shabunin, D. I. Shabanov, Khokhlova N. A., A. A. Korchagina, M. Yu. Syromyatnikov, A. V. Nekrasov, M. A. Selyutina, D. D. Morozova // Agricultural Biology. 2024: 59(6): 1192-1203. DOI 10.15389/agrobiology.2024.6.1192rus. URL: https://agrobiology.ru/6-2024vostroilova.html.

7. Vostroilova, G.A., Study of the effect of

lipophilic cryofractions of bovine spleen and placenta on mice under the genotoxic effect of mitomycin / G. A. Vostroilova, D. I. Shabanov, N. A. Khokhlova, A. A. Korchagina, A. V. Nekrasov, M. Yu. Syromyatnikov, N. A. Strelnikov // Agrarian science. 2025: 398 (09): 22–29. DOI 10.32634/0869-8155-2025-398-09-22-29. URL: https://www.vetpress.ru/jour/issue/current.

8. Mironov, A. N. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part one / Ed. A.N. Mironova. - Moscow, Publisher: "Grif i K", 2012. - 944 p. URL: https://rsmu.ru/fileadmin/templates/DOC/Zakon_RF/Mironov_Rukovodstvo_po_provedeniju_doklinicheskikh_issledovanii_lekarstvennykh_sredstv.pdf.

9. Lapin, K. N. The effect of cyclophosphamide on the reproductive system of male rats / K. N. Lapin, I. A. Ryzhkov, N. M. Zakharova // Experimental and clinical pharmacology. 2020: 83(11): 16-19. DOI 10.30906/0869-2092-2020-83-11-16-19. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=44315493.

10.Voelcker G. The Mechanism of Action of Cyclophosphamide and Its Consequences for the Development of a New Generation of Oxazaphosphorine Cytostatics / G. Voelcker // Scientia Pharmaceutica. 2020: 88 (4): 42. DOI 10.3390/scipharm88040042. URL: https://www.mdpi.com/2218-0532/88/4/42.

11.Spears N. Ovarian damage from chemotherapy and current approaches to its protection / N., Spears, F., Lopes, A., Stefansdottir, V., Rossi, M., De Felici, R.A., Anderson, F.G., Klinger, // Human reproduction update. 2019: 25(6): 673-693. DOI 10.1093/humupd/dmz027. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31600388/.

12.Olowe, T.G. Cytotoxic Properties of Cyclophosphamide: A Focus on Its Mechanistic Impacts on Male Gonadal Functions / T.G., Olowe, M.O., Oyovwi, K.E., Nwangwa, E.P., Ohwin, O.B. Oghenetega, // J Explor Res Pharmacol. 2024: 9(2): 106–115. DOI 10.14218/JERP.2023.00025S. URL: https://www.xiahepublishing.com/2572-5505/JERP-2023-00025S

13.Ebokaiwe A.P. Cyclophosphamide-induced testicular oxidative-inflammatory injury is accompanied by altered immunosuppressive indoleamine 2, 3-dioxygenase in Wister rats: Influence of dietary quercetin / A.P., Ebokaiwe, D.O., Obasi, R.C., Njoku, S. Osawe, // Andrologia. 2022: 54(3): e14341. DOI 10.1111/and.14341. URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/and.14341.

14.Shabunin S.V., Belyaev V.I., Vostroilova G.A., Kabitsky S.N. Organopreparations (medicines from animal organs and tissues). Voronezh, 2013.; URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=26618629&ysclid=mfmhl8wtge466492286.

15.Kawakatsu M., Placental extract protects bone marrow-derived stem/progenitor cells against radiation injury through anti-inflammatory activity. / M., Kawakatsu, Y., Urata, S., Goto, Y., Ono, T. S. Li, // Journal of Radiation Research. 2013: 54(2): 268-276. DOI 10.1093/jrr/rrs105. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23154884/.

16.Shabanov, D. I. Study of cytogenetic stability of mouse bone marrow using hydrophilic cryofraction of cattle spleen / D. I. Shabanov // Veterinary Pharmacological Bulletin. 2024: 4(29): 36-43. DOI 10.17238/issn2541-8203.2024.4.36. URL: http://en.vfvrn.ru/netcat_files/6/2/VFV_2024_4_29_.pdf.

17.Shabunin S.V. The influence of aminoseleton on the state of the prooxidant and antioxidant blood systems in sows / S. V. Shabunin, A. G. Shakhov, G. A. Vostroilova, P. A. Parshin, T. G. Ermolova, N. A. Khokhlova, G. N. Bliznetsova // Achievements of science and technology of the agro-industrial complex. 2019: 33 (7): 71-74. DOI 10.24411/0235-2451-2019-10716. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=39205932.

УДК: 636.082:591.151:636.2
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2025.4.478

ОЦЕНКА АССОЦИАЦИЙ ГЕНОВ PIT-1 И PRL С МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТЬЮ И АНАЛИЗ УСЛОВИЙ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ПОДТВЕРЖДАЕМОСТИ РАЗЛИЧИЙ У КОРОВ КРАСНОЙ СТЕПНОЙ ПОРОДЫ

Оздемиров А.А. [1]* – канд. биол. наук, зав. лаб. геномных исследований, селекции и племенного дела (ORCID 0000-0003-2150-2192); **Крупин Е.О.** [2] – д-р ветеринар. наук, вед. науч. сотр. отд. физиологии, биохимии, генетики и питания животных (ORCID 0000-0002-8086-1788)

[1] ФГБУН «Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан»
[2] ФГБУН Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»

* alim72@mail.ru

***Ключевые слова**: молочная продуктивность; PIT-1; PRL; ПЦР-ПДРФ; анализ чувствительности; мощность; вариабельность; красная степная порода.*

***Key words:** milk productivity; PIT-1; PRL; PCR-RFLP; sensitivity analysis; power; variability; Red Steppe breed.*

Поступила: 28.08.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Целью работы было охарактеризовать полиморфизм локусов PIT-1 и PRL в стадах красной степной породы Республики Дагестан и оценить, при каких уровнях вариабельности продуктивных признаков различия между генотипами потенциально подтверждаемы статистически. Генотипирование 48 коров выполнено методом ПЦР-ПДРФ (PIT-1/HinfI; PRL/RsaI) с воспроизводимой схемой термоциклирования и рестрикции. Сформированы группы животных следующих полиморфных генотипов: для гена PIT-1 - AA (n=11), AB (n=16), BB (n=20); для гена PRL - AA (n=34), AB (n=11), BB (n=2). Учитывая семейную структуру (дочери одного быка) и отсутствие индивидуальных рядов продуктивности, формальные сравнения заменены анализом чувствительности: рассчитаны пороги SD и CV (для $p<0,05$ и мощности ~ 80%) по удою, массовой доле жира и белка для всех парных контрастов генотипов внутри каждого локуса, а также их медианы по локусу. Результаты генотипирования показывают, что по удою подтверждение различий возможно при умеренной вариабельности, причём для PRL требуемые CV и SD ниже, чем для PIT-1; по жиру требования также умеренные. В отношении такого показателя молочной продуктивности, как белок, при типичной производственной дисперсии, различия маловероятны и потребуют увеличения выборок измерений. Полученные пороги могут служить практическими ориентирами для планирования мощности последующих исследований и интеграции маркеров в селекционные задачи на уровне хозяйств.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Повышение эффективности молочного скотоводства, все в большей мере опирается на точное описание генетической структуры стада и рациональное использование маркерных данных в племенной работе. Классические подходы (оценка по собственной продуктивности и по происхождению) постепенно дополняются и уточняются молекулярно-генетическими методами, позволяющими ускорять селекционный процесс, контролировать инбридинг и оптимизировать подбор родительских пар в локальных популяциях [1]. В таких условиях особую ценность приобретают гены-кандидаты, вовлечённые в регуляцию лактации и состава молока, по которым доступны простые и воспроизводимые протоколы генотипирования. К числу таких маркеров относятся PIT-1 и PRL (пролактин). PIT-1 - ключевой транскрипционный фактор гипофиза, регулирующий экспрессию гормона роста, пролактина и тиреотропного гормона. PRL непосредственно участвует в поддержании лактации. Для обоих локусов описаны полиморфизмы, у скота различных популяций, доступные к типированию методом ПЦР-ПДРФ PIT-1 (HinfI); PRL (RsaI), с хорошо зарекомендовавшими себя праймерами и рестрикционными картами [2-4]. В источниках литературы указывается, что носительство определённых аллелей (генотипов) может сопровождаться изменениями удоя, массовой доли жира и белка. Однако направление и величина эффектов зависят от породы, структуры выборки, системы кормления и уровня продуктивности стада, при этом необходимо учитывать, что результаты, полученные в одной популяции, нередко плохо переносимы на другую.

Красная степная порода, активно используемая в Республике Дагестан, сочетает адаптированность к местным условиям и приемлемую молочную продуктивность. При этом молекулярно-генетические характеристики региональных стад изучены ограниченно, а сведения об ассоциациях локусов PIT-1 и PRL с продуктивными признаками - фрагментарны. Это сдерживает внедрение маркеров в практическую селекцию на уровне хозяйств [5]. Дополнительная методологическая сложность заключается в том, что многие хозяйственные выборки имеют семейную структуру (например, значительная доля дочерей одного производителя). Такая конфигурация нарушает независимость наблюдений и ограничивает применимость некоторых популяционных тестов и стандартных сравнений по группам. В этих условиях полезно дополнять описательные сравнения анализом чувствительности, т.е. оценкой того, при какой дисперсии признака (SD) или относительной вариабельности (CV) различия между генотипами в принципе могут быть статистически подтверждены при заданном уровне значимости и мощности. Такой подход не заменяет формальные тесты, но дает прозрачные ориентиры для планирования объемов выборок и требований к однородности данных при последующих исследованиях.

Базовые описательные результаты по данной статье (распределение генотипов и аллелей PIT-1 и PRL, а также средние значения удоя, жирности и белка по генотипическим группам) были ранее опубликованы для этой же популяции [6]. Настоящая статья представляет методологическое развитие, а именно - повторный расчёт и интерпретацию показателей HWE с акцентом на дефицит гетерозигот; введение анализа чувствительности (пороговые SD и CV для достижения $p<0,05$ и мощности ~ 80% по всем парным контрастам); компоновка результатов в виде медианных порогов по локусам и их визуализации; воспроизводимый ПЦР-ПДРФ протокол и схематические электрофореграммы для внедрения в практику.

Таким образом, цель настоящей работы - охарактеризовать полиморфизм локусов PIT-1 и PRL у коров красной степной породы, выращиваемых в Республике Дагестан, и оценить условия статистической подтверждаемости различий по удою, жиру и белку между генотипическими группами.

Научная новизна и практическая зна-

чимость работы состоят в представлении актуальных данных о полиморфизме PIT-1 и PRL в региональной выборке красной степной породы, формализации требований к качеству данных (SD, CV) для статистического подтверждения различий по ключевым признакам молочной продуктивности при реальных размерах групп, и предоставлении воспроизводимого описания лабораторного протокола и визуальных ориентиров (RFLP-паттернов), пригодных для внедрения в научную практику. Полученные ориентиры по CV и SD могут использоваться при планировании последующих выборок, корректировке технологических режимов учета (для снижения технической и биологической вариабельности) и приоритизации маркеров для локальных программ отбора.

В данной научной работе мы рассматриваем результаты как диагностическую основу для последующих, более широких исследований с независимыми выборками, учитывающими родственные связи и фиксированные эффекты. Такой двухэтапный подход - от описательной оценки и чувствительности к валидации - минимизирует риск ложных выводов и повышает полезность маркерных данных для селекционной практики.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Генетическое исследование коров красной степной породы по локусам PIT-1 и PRL выполнено в условиях хозяйства КХ «Агрофирма Чох» (Республика Дагестан). Генотипирование проводили методом ПЦР-ПДРФ (полимеразной цепной реакции - полиморфизма длин рестрикционных фрагментов) [7-9] на четырёхканальном программируемом термоциклере «Терцик» (ООО «ДНК-Технология», Россия) с использованием специфических праймеров, синтезированных в НПЛ «СИНТОЛ» (Москва). В исследование включены 48 коров первой лактации, но для расчёта частот аллелей и генотипов использованы 47 валидно типированных образцов (одна проба исключена из-за отсутствия валидного генотипа по одному из локусов). Описательные сводки частот генотипов (аллелей) и средних по группам соответствуют ранее представленным для этой же статьи данным [6] и приведены здесь только как исходная база для новых расчётов (HWE-интерпретация и анализ чувствительности). Кровь отбирали из яремной вены в пробирки с ЭДТА. ДНК выделяли набором Diatom™ DNA Prep 100 (IsoGeneLab, Москва) согласно инструкции производителя. Выход ДНК составлял - 3-5 мкг/100 мкл элюата; отношение $OD_{(260/280)}$ для большинства образцов было 1,8, что соответствовало удовлетворительному качеству ДНК.

Для локуса PIT-1 использовали праймеры F: 5′-CAATGAGAAAGTTGGTGC-3′ и R: 5′-TCTGCATTCGAGATGCTC-3′ с последующей рестрикцией HinfI по оригинальному протоколу Moody et al., 1995 [10,11]. Для локуса PRL амплифицировали фрагмент 156 п.н. (экзон 3) праймерами F: 5′-CGAGTCCTTATGAGCTTGATTCTT-3′ и R: 5′-GCCTTCCAGAAGTCGTTTGTTTTC-3′ с последующей рестрикцией RsaI по первоописанию Mitra et al., 1995 [12]. Ожидаемые паттерны фрагментов: PRL - AA: 156 п.н.; AB: 156/82/74 п.н.; BB: 82/74 п.н.; PIT-1 - характерные фрагменты для AA/AB/BB согласно [10,11]. Реакции ставили в объёме 25 мкл: 1× буфер GenePak PCR Core (IsoGeneLab), $MgCl_2$ по инструкции набора, 200 мкМ каждого dNTP, 0,2 мкМ каждого праймера, 1 U термостабильной ДНК-полимеразы и 50 нг геномной ДНК. Режим термоциклирования на «Терцик»: предварительная денатурация 95 °C, 3 мин; 30-35 циклов: 94 °C, 30 с; отжиг при 55 °C (PIT-1) или 63 °C (PRL), 30-45 с; удлинение 72 °C, 60-120 с (с учётом длины ампликона); финальное удлинение 72 °C, 7-10 мин. Параметры согласованы с опубликованными протоколами PCR-RFLP для соответствующих локусов [8-10]. По 10 мкл ПЦР-продукта инкубировали с соответствующей эндонуклеазой (HinfI для PIT-1; RsaI для PRL) в 1× буфере производителя при 37 °C в течение 1,5-2 ч; инактивацию фермента проводили по паспорту производителя. Рестрикцию

проводили в 20 мкл с добавлением 5 U HinfI (PIT-1) или 5 U RsaI (PRL) в 1× буфере; 37 °C, 2 ч; инактивация по паспорту. Контроль частичной рестрикции осуществляли повторной постановкой реакции и сравниванием паттернов. Рестрикционные фрагменты разделяли в 2,0-2,5 % агарозном геле (TAE- или TBE-буфер), 90-120 В, 30-60 мин, с последующей окраской бромистым этидием и визуализацией в УФ-свете. В качестве маркера молекулярных масс использовали GenePak DNA Markers (IsoGeneLab; 50/100 bp ladder). Для PRL использовали гели >2,0 % для уверенного разрешения полос. В статью включается иллюстрация типичной электрофореграммы по каждому локусу (AA, AB и BB) с указанием размеров фрагментов. Для оценки ошибок типирования повторно анализировали не менее 10-15 % образцов (повторная ПЦР и рестрикция). Генотип присваивали по паттерну полос, строго соответствующему ожидаемым размерам фрагментов для AA, AB и BB; при сомнительном паттерне образец повторяли. Частоты аллелей и генотипов рассчитывали прямым подсчётом. Соответствие распределения генотипов равновесию Харди-Вайнберга проверяли χ^2-критерием (df=1). Наблюдаемую и ожидаемую гетерозиготность (Но, Не) вычисляли стандартным образом.

Агрегированные n и средние по генотипическим группам приведены в Приложении, Табл. A1; перекрёстная сводка PIT -1×PRL — в Табл. A1a–A1b.

Группы формировали по каждому локусу отдельно - PIT-1 (AA, AB и BB) и PRL (AA, AB и BB). В данной статье приводятся описательные средние по группам; формальные тесты не выполнялись из-за ограничения индивидуальных наблюдений. Для интерпретации различий выполнен анализ чувствительности.

Анализ чувствительности. Для каждого парного контраста групп рассчитывали пороговые значения стандартного отклонения (SD), при которых достигаются: статистическая значимость (*двусторонний t-критерий*, α=0,05; предположение о равенстве дисперсий), и *мощность* - 80% по нормальной аппроксимации (использовали сумму квантилей **z**: $z_{(1-\alpha/2)} + z_{(0.80)} = 2{,}80$. Степени свободы для критерия *t*: $df = n_1+n_2-2$. Для сопоставимости между признаками дополнительно вычисляли коэффициент вариации (CV, %) относительно среднего двух сравниваемых групп: $CV\% = SD / ((\mu_1+\mu_2)/2) \times 100$.

Расчёты носят оценочный характер и служат для интерпретации достижимости эффектов при заданных объёмах групп.

Организационно-технический протокол (тип метода ПЦР-ПДРФ, термоциклер «Терцик», производители реагентов) идентичен применённому нами ранее при типировании овец дагестанской горной породы по генам CAST, GH, GDF9 [13], с адаптацией праймеров и ферментов под локусы PIT-1 и PRL.

Таблица 1 – Праймеры, условия ПЦР и параметры рестрикционного анализа локусов PIT-1 и PRL у коров красной степной породы

Ген	Праймер F (5'-3')	Праймер R (5'-3')	T° отжига,° C	Ампликон, п.н.	Эндонуклеаза / замена	Генотипы	Источник праймеров
PIT-1 (POU1F1)	CAATGAGAAAGTTGGTGC	TCTGCATTCGAGATGCTC	55	660	HinfI / A-G	AA / AB / BB	Moody et al., 1995 (Anim Genet)
PRL	CGAGTCCTTATGAGCTTGATTCTT	GCCTTCCAGAAGTCGTTTGTTTTC	63	156	RsaI / A-G	AA / AB / BB	Mitra et al., 1995 (J Anim Breed Genet)

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Базовое распределение генотипов и аллелей *PIT-1* и *PRL* в настоящей выборке соответствует ранее опубликованным для этой же популяции данным [6] (см. Приложение (табл. A1)). На этой основе мы оценили соответствие распределений равновесию Харди-Вайнберга (HWE) и выполнили анализ чувствительности (пороговые SD и CV) для парных контрастов генотипов.

Проведённый анализ распределения генотипов и аллелей локусов PIT-1 и PRL у коров красной степной породы (n = 47) выявил умеренный дефицит гетерозигот по PIT-1 (Ho = 0,35; He = 0,48; $\chi^2 = 4,02$; p = 0,045). Проверка на соответствие HWE приведена справочно (из-за семейной структуры выборки её значения не подлежат строгой интерпретации и не используются для биологических выводов). Для локуса PRL отклонение от равновесия незначимо (Ho = 0,23; He = 0,27; $\chi^2 = 0,76$; p = 0,383), однако доля гомозигот (AA + BB) здесь выше (77 %) по сравнению с PIT-1 (65 %), что отражает относительно большую генетическую упорядоченность по данному локусу. Такая структура аллелей согласуется с литературными данными, где для молочных пород часто наблюдается смещение в сторону аллеля A пролактинового гена, ассоциированного с повышенной молочной продуктивностью и устойчивостью лактации.

Для оценки связи генотипов с продуктивными признаками сформированы независимые группы по каждому локусу:

PIT-1: AA (n = 11), AB (n = 16), BB (n = 20)

PRL: AA (n = 34), AB (n = 11), BB (n = 2)

Перекрёстное распределение генотипов PIT-1×PRL см. Табл. A1a–A1b (Приложение). Разрежённость ячеек (в т.ч. PRL BB, n=2) обосновывает раздельный анализ локусов. Показатели удоя, массовой доли жира и белка приведены как средние по группам (без вариационных характеристик, поскольку на данном этапе индивидуальные наблюдения ограничены). На описательном уровне более высокие средние значения удоя отмечены у PIT-1 AA и PRL AA, жирномолочности - у PIT-1 BB и PRL BB, причем, различия по белку малы. Значения средних приведены в таблицах 2-4. Крайне малая численность PRL BB (n=2) ограничивает достоверность выводов для этого генотипа, с учетом этого, данные приводятся описательно.

Для оценки условий, при которых различия средних могли бы быть статистически значимыми, выполнен анализ чувствительности. Для каждого парного сравнения рассчитаны пороговые значения стандартного отклонения (SD) и коэффициента вариации (CV%), обеспечивающие достижение уровня значимости $p < 0,05$ (двусторонний t-критерий, равенство дисперсий) и мощности ≈80% (нормальная аппроксимация).

Наблюдаемые контрасты по удою различаются при заданных объёмах групп. Наиболее реалистичными выглядят сравнения PIT-1 AA в сравнении с AB и PIT-1 AA в сравнении с BB: для достижения $p<0,05$ требуются $CV<15,5\%$ и $CV<12,4\%$, соответственно; для мощности - 80% - $CV<11,4\%$ и $CV<9,0\%$. Контраст PRL AA в сравнении с AB предъявляет более жёсткие требования ($CV<20,1\%$ для $p<0,05$; 14,5% для мощности). Сравнение PIT-1 AB в сравнении с BB характеризуется малой амплитудой (Δ -94 кг) и требует очень низкого CV (4,4% / 3,2%), что на практике достижимо лишь при крайне стабильных условиях. Сравнения, включающие PRL BB (n=2), интерпретируются с осторожностью из-за малой численности.

Для жирномолочного признака контрасты средней величины выглядят подтверждаемыми при умеренной дисперсии. В частности, для PIT-1 AA в сравнении с BB требуемые пороги составляют CV - 10,7% и 8,0% ($p<0,05$, мощность - 80%), для PIT-1 AB в сравнении с BB и PRL AA в сравнении с AB - 7,8% и 5,7%. Контрасты малой амплитуды (Δ - 0,10 п.п.) - например, PRL AB в сравнении с BB - требуют очень низкого CV (1,6% и 1,3%); это возможно лишь при высоком контроле вариабельности. Сравнение PRL AA в сравнении с BB выглядит наиболее чув-

ствительным (5,3% и 4,0%), однако выводы ограничены редким генотипом PRL BB (n=2).

Различия по белку малы (Δ 0,02-0,06 п.п.) и статистически достижимы только при очень низких уровнях вариабельности: для p<0,05 требуются CV порядка 0,3 -2,3%, для мощности - 80% - 0,3-1,6%. При уровнях вариабельности, типичных для производственных стад, столь низкие значения CV встречаются редко; поэтому результаты по белку трактуются преимущественно описательно и требуют расширения выборки или повторных измерений для убедительного подтверждения.

Таблица 2 – Удой-пороги SD и CV для достижения статистической значимости (p<0,05) и мощности ~ 80% по локусам PIT-1 и PRL

Ген	Сравниваемые генотипы	n1/n2	Средние (1; 2) (305-дн. лактация)	Δ (абс)	SD (p<0.05 ; мощн. ~80%)	CV% p<0.05; мощн. ~80%)
PIT-1	AA vs AB	11/16	3506,0; 3094,0	412,0	510,63; 375,68	15,47; 11,38
PIT-1	AA vs BB	11/20	3506,0; 3188,0	318,0	414,25; 302,55	12,38; 9,04
PIT-1	AB vs BB	16/20	3094,0; 3188,0	94,0	137,81; 100,09	4,39; 3,19
PRL	AA vs AB	34/11	3528,0; 3064,0	464,0	662,92; 477,74	20,11; 14,49
PRL	AA vs BB	34/2	3528,0; 3282,0	246,0	166,25; 120,75	4,88; 3,55
PRL	AB vs BB	11/2	3064,0; 3282,0	218,0	128,85; 101,28	4,06; 3,19

Примечание (для таблиц 2-4): SD - стандартное отклонение; CV - (SD / среднее) ·100%, где среднее = ($\mu_1 + \mu_2$)/2; Δ - абсолютная разница средних; n_1/n_2 - численности сравниваемых групп; пороги рассчитаны для двустороннего t-критерия при α = 0,05 и мощности - 80%. Сравнения с участием PRL BB (n = 2) требуют осторожной интерпретации.

Таблица 3 – Массовая доля жира (%) - пороги SD и CV для p<0,05 и мощности ≈80% по локусам PIT-1 и PRL

Ген	Сравниваемые генотипы	n1/n2	Средние (1; 2)	Δ (абс)	SD (p<0.05; мощн.~ 80%)	CV% (p<0.05; мощн.~ 80%)
PIT-1	AA vs AB	11/16	3,5; 3,6	0,1	0,12; 0,09	3,38; 2,54
PIT-1	AA vs BB	11/20	3,5; 3,8	0,3	0,39; 0,29	10,68; 7,95
PIT-1	AB vs BB	16/20	3,6; 3,8	0,2	0,29; 0,21	7,84; 5,68
PRL	AA vs AB	34/11	3,6; 3,8	0,2	0,29; 0,21	7,84; 5,68
PRL	AA vs BB	34/2	3,6; 3,9	0,3	0,20; 0,15	5,33; 4,0
PRL	AB vs BB	11/2	3,8; 3,9	0,1	0,06; 0,05	1,56; 1,30

Таблица 4 – Массовая доля белка (%) - пороги SD и CV для p<0,05 и мощности ≈80% по локусам PIT-1 и PRL

Ген	Сравниваемые генотипы	n1/n2	Средние (1; 2)	Δ (абс)	SD (p<0.05 ; мощн.~80%)	CV% (p<0.05 ; мощн.~80%)
PIT-1	AA vs AB	11/16	3,08; 3,14	0,06	0,07; 0,05	2,25; 1,61
PIT-1	AA vs BB	11/20	3,08; 3,12	0,04	0,05; 0,04	1,61; 1,29
PIT-1	AB vs BB	16/20	3,14; 3,12	0,02	0,03; 0,02	0,96; 0,64
PRL	AA vs AB	34/11	3,10; 3,15	0,05	0,07; 0,05	2,24; 1,60
PRL	AA vs BB	34/2	3,10; 3,12	0,02	0,01; 0,01	0,32; 0,32
PRL	AB vs BB	11/2	3,15; 3,12	0,03	0,02; 0,01	0,64; 0,32

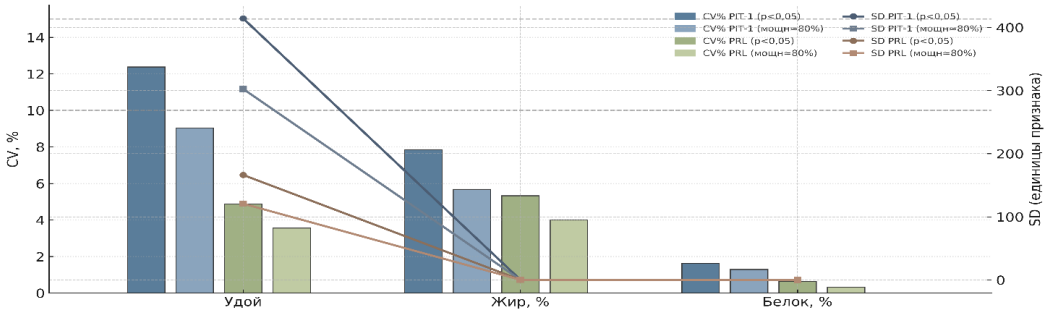


Рисунок 1 – Сводная оценка требуемой вариабельности по локусам PIT-1 и PRL (медианные CV и SD для подтверждаемости различий по удою, жирности и белку).

Примечание: график показывает по каждому признаку медианные пороговые значения CV и SD, вычисленные по всем парным сравнениям генотипов внутри локусов PIT-1 и PRL (p<0,05; мощн≈80%) по всем парным контрастам генотипов внутри локуса (AA-AB, AA-BB, AB-BB). Столбцы отображают требуемые CV, % (левая ось) отдельно для PIT-1 и PRL, линии с маркерами - соответствующие SD в единицах признака (правая ось). Пунктирные уровни 10% и 15% служат визуальными ориентирами «умеренной» вариабельности.

По результатам проведенного анализа чувствительности можно отметить, что выявленные различия по удою и массовой доле жира потенциально достижимы для статистического подтверждения при умеренной вариабельности, тогда как различия по массовой доле белка требуют маловероятных в производственных условиях уровней стабильности.

Визуальная оценка достижимости эффектов по признакам молочной продуктивности приведена на рис. 1.

По удою пороговые значения для PIT-1 выше (CV - 12,4% для p<0,05 и 9,0% для мощности; SD - 414 и 303), чем для PRL (CV - 4,9% и 3,6%; SD - 166 и 121). Это указывает на различие в требуемом уровне вариабельности: для PIT-1 допустим больший разброс (пороги выше), тогда как для PRL подтверждение эффектов требует более жёсткого контроля дисперсии (пороги ниже). Для массовой доли жира требования умеренные: PIT-1 - CV-7,8% и 5,7% (SD-0,29 и 0,21), PRL - CV-5,3% и 4,0% (SD-0,20 и 0,15). По массовой доле белка требуемые уровни вариа-

бельности минимальны: PIT-1 - CV-1,6% и 1,3% (SD-0,05 и 0,04), PRL - CV-0,64% и 0,32% (SD-0,02 и 0,01), что указывает на ограниченную статистическую достижимость эффектов при типичной производственной дисперсии и необходимость либо увеличения выборок, либо многократных измерений.

Важно отметить, что применение медианы по трём контрастам в рамках локуса снижает влияние экстремальных сочетаний (например, редких генотипов), но может занижать требования для «тяжёлых» сравнений (в частности, PRL AA по сравнению с AB). Поэтому график предназначен как сводный ориентир по признаку и локусу, а детальные пороги для конкретных пар генотипов следует интерпретировать по соответствующим таблицам.

Нами включена типичная электрофореграмма ПЦР-ПДРФ по локусам PIT-1 (HinfI) и PRL(RsaI) с обозначением размеров фрагментов и генотипов AA, AB и BB (рис. 2).

PIT-1 - AA - 660 п.н.; AB - 660, 390, 270; BB - 390, 270. PRL - AA - 156 п.н.; AB -- 156, 82, 74; BB - 82, 74.

Схематически показаны эталонные полосы, соответствующие длинам рестрикционных фрагментов (bp) для трёх генотипов каждого локуса; шкала размеров приведена сбоку у каждой панели. Положение полос отражает относительные длины продуктов рестрикции (чем больше фрагмент, тем выше его положение на схеме).

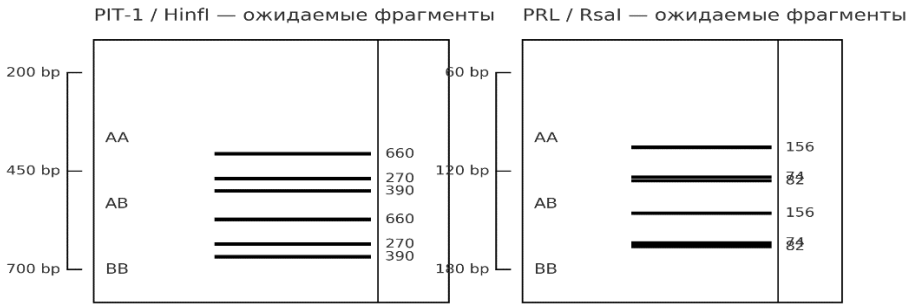


Рисунок 2 – ПЦР-ПДРФ-типирование по локусам PIT-1(HinfI) и PRL(RsaI) (схема ожидаемых фрагментов). Примечание: рисунок носит схематический характер и служит для чтения генотипов по диагностическим полосам.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Выполненный анализ полиморфизмов PIT-1 и PRL у коров красной степной породы подтвердил наличие вариабельности по обоим локусам. Так, для PIT-1 выявлены аллели A и B с преобладанием B (q-0,59), а для PRL - доминирование аллеля A (p-0,84). По PIT-1 зафиксирован умеренный дефицит гетерозигот относительно равновесия Харди-Вайнберга, тогда как по PRL признаки консолидации выражены сильнее. Такая структура согласуется с общими наблюдениями по молочным породам, где пролактиновый локус нередко демонстрирует смещение в сторону аллеля, ассоциированного с повышенным удоем и стабильностью лактации. Описательные сравнения «генотип - продуктивность» показывают ожидаемые биологические тенденции. PIT-1 (POU1F1) - транскрипционный фактор гипофиза, соответственно, его вариации логично связывать с уровнем секреции гормонов и, как следствие, с лактационными признаками. В нашей выборке более высокие средние значения удоя отмечены у PIT-1 AA, тогда как PIT-1 BB характеризуется большей жирномолочностью. Аналогично этому, генотип PRL AA демонстрирует наибольший средний удой, а PRL BB - наибольшую массовую долю жира. Различия по массовой доле белка малы и, по-видимому, менее чувствительны к вариациям в указанных локусах, что согласует-

ся с литературными данными о более сложной, полигенной структуре белковомолочности.

Важным элементом интерпретации является анализ чувствительности, выполненный вместо формальной проверки гипотез (индивидуальные наблюдения на текущем этапе недоступны). Эта оценка показывает, при каких реалистичных уровнях вариабельности различия средних были бы статистически подтверждаемы. Наиболее перспективными к последующей верификации выглядят контрасты PRL AA в сравнении с AB по удою (Δ-0,46 т) и PIT-1 AA в сравнении с AB и BB (Δ-0,32-0,41 т). При умеренной дисперсии (CV порядка 10-15%) такие эффекты ожидаемы по значимости и мощности. Напротив, контраст PIT-1 AB в сравнении с BB имеет небольшую амплитуду и потребовал бы нереалистично низкого разброса; вероятность его подтверждения невысока. Отдельно подчеркнём, что интерпретация PRL BB ограничена крайне малой численностью (n=2), в соответствии с этим, любые выводы по этому генотипу должны рассматриваться как предварительные. На результаты мог повлиять ряд методических и биологических факторов. Здесь важно уточнить, что все животные - дочери одного быка-производителя. Генотип отца по PIT-1 и PRL не определён, вследствие этого вклад отцовских аллелей оценить невозможно. Анализ выполнен раздельно по каждому локусу, тогда как двухлокусная модель (PIT-1×PRL) потребует большей выборки и более равномерного распределения генотипов, особенно для редких классов (PRL BB). Нужно также отметить, что учёт дополнительных факторов (возраст, масса к отёлу, длительность лактации, кормление, сезон) позволит снять часть фоновой вариабельности и уточнить эффекты генотипов. Без такого учёта эффекты могут быть занижены либо смещены. С практической точки зрения полученные закономерности поддерживают целесообразность использования PIT-1 и PRL как маркеров в предварительном отборе коров, особенно при работе с районированными популяциями, где важно сочетать продуктивность и адаптационную устойчивость. При этом тактика селекции должна быть многокритериальной, например, на хозяйства, ориентированные на объём удоя, предпочтительны генотипы PIT-1 AA и PRL AA, но при акценте на жирномолочность — генотипы PIT-1 BB и, потенциально, PRL BB (только после расширенной верификации из-за малой n). Внедрение генотипирования по указанным локусам в практику племенной работы рационально сочетать с стандартными оценками по продуктивности и показателям здоровья и репродукции.

Необходимо отметить такие ограничения проведенных исследований, как отсутствие индивидуального уровня данных. Это не позволило представить показатели вариации и формальные p-значения. Далее - единый отец у всей группы смещает аллельные частоты и сужает генетическую независимость выборки. Следующее ограничение это - крайне малая численность PRL BB, что не позволяет проводить надёжные выводы для этого генотипа и, последнее - эффекты двух локусов оценены по отдельности, без двухфакторного анализа и учёта дополнительных факторов (ковариат). Указанные ограничения мы учли при интерпретации, а их влияние может быть нивелировано в будущей работе расширением выборки, тестированием генотипа отца, сбором индивидуальных лактационных данных и применением моделей ANOVA, GLM. В целом наблюдаемые ассоциации согласуются с биологической ролью PIT-1 и PRL в регуляции лактации и подтверждают их прикладную значимость для локальных программ племенной работы. Для окончательной количественной верификации эффектов потребуется расширенная выборка с индивидуальными записями, после чего уместно переходить к многофакторным моделям и, при возможности, к более детальной маркерной, геномной селекции.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

1. У коров красной степной породы выявлен полиморфизм по локусам PIT

-1 и PRL, причем по PIT-1 отмечен умеренный дефицит гетерозигот, по PRL - признаки консолидации аллелей.

2. По описательным данным удой выше у генотипов PIT-1 AA и PRL AA, тогда как жирномолочность выше у PIT-1 BB и, вероятно, PRL BB (последний вывод ограничен малой n). Различия по белку при этом незначительны.

3. Анализ чувствительности показывает, что контрасты PRL AA в сравнении с AB, а также PIT-1 AA в сравнении с AB и BB по удою реалистично подтверждаемы при умеренной вариабельности, при этом PIT-1 AB в сравнении с BB - маловероятен по значимости, тогда как PRL BB статистически неинформативен из-за малой выборки (n=2).

4. Единый отец у всей выборки и отсутствие индивидуальных наблюдений ограничивают формальную статистическую проверку и результаты интерпретируются как предварительные.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ / PRACTICAL RECOMMENDATIONS

Необходимо использовать результаты генотипирования по PIT-1 и PRL в составе комплексной племенной оценки и соотносить целевые генотипы с производственной целью (объём удоя в сравнении с жирномолочностью), а также подтвердить эффекты на расширенной выборке.

EVALUATION OF ASSOCIATIONS OF PIT-1 AND PRL GENES WITH MILK PRODUCTIVITY AND ANALYSIS OF STATISTICAL SIGNIFICANCE OF DIFFERENCES IN RED STEPPE COWS

Ozdemirov A.A.[1] * – Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Genomic Research, Selection and Breeding (ORCID 0000-0003-2150-2192); **Krupin E.O.**[2] – Doctor of Veterinary Sciences, Leading Researcher of the Department of Physiology, Biochemistry, Genetics and Animal Nutrition (ORCID 0000-0002-8086-1788).

[1] Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Scientific Center of the Republic of Dagestan"

[2] Federal State Budgetary Institution of Science "Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences"

*alim72@mail.ru

ABSTRACT

The aim of this study was to characterize the polymorphism of the PIT-1 and PRL loci in Red Steppe cattle herds of the Republic of Dagestan and to assess the levels of variability in production traits at which differences between genotypes could be statistically confirmed. Genotyping of 48 cows was performed using the PCR-RFLP method (PIT-1/HinfI; PRL/RsaI) with a reproducible thermocycling and restriction protocol. For PIT-1, the following genotype groups were formed: AA (n = 11), AB (n = 16), BB (n = 20); for PRL: AA (n = 34), AB (n = 11), BB (n = 2). Considering the family structure (daughters of the same sire) and the absence of individual productivity records, formal comparisons were replaced by a sensitivity analysis: thresholds of SD and CV (for $p < 0.05$ and power ~80%) were calculated for milk yield, fat percentage, and protein percentage for all pairwise genotype contrasts within each locus, as well as their medians per locus. Genotyping results indicate that for milk yield, confirmation of differences is possible under moderate variability, with lower CV and SD requirements for PRL than for PIT-1; for fat percentage, the requirements are also moderate. For milk protein percentage, given typical production variance, significant differences are unlikely and would require larger sample sizes. The obtained thresholds can serve as practical guidelines for planning statistical power in future studies and for integrating these markers into breeding programs at the farm level.

Доступность данных

Агрегированные таблицы средних значений, разниц и расчётных порогов SD/CV ($p<0,05$; мощн. ~ 80%), а также формулы для воспроизводимости анализа чувствительности предоставляются по обоснованному запросу.

Дополнительные материалы - Табл. A1 (сводка по группам) и Табл. A1a–A1b (PIT-1×PRL).

ПРИЛОЖЕНИЕ 1.

Таблица А1 – Сводка по генотипическим группам (PIT-1, PRL) (n и средние по удою (кг), жиру (%) и белку (%))

Локус	Генотип	n	Удой, кг	Жир, %	Белок, %
PIT-1	AA	11	3506,0	3,5	3,08
PIT-1	AB	16	3094,0	3,6	3,14
PIT-1	BB	20	3188,0	3,8	3,12
PRL	AA	34	3528,0	3,6	3,1
PRL	AB	11	3064,0	3,8	3,15
PRL	BB	2	3282,0	3,9	3,12

Таблица А1a – Перекрёстная таблица PIT-1 × PRL: ожидаемые частоты при независимости (дробные) с итогами по строкам и столбцам

Генотипы	PRL AA	PRL AB	PRL BB
PIT-1 AA	7,96	2,57	0,47
PIT-1 AB	11,57	3,74	0,68
PIT-1 BB	14,47	4,68	0,85

Таблица А1b – Перекрёстная таблица PIT-1 × PRL: целочисленная раскладка, согласованная с маргиналиями

Генотипы	PRL AA	PRL AB	PRL BB
PIT-1 AA	8	3	0
PIT-1 AB	12	3	1
PIT-1 BB	14	5	1

Примечание: N = 47; маргинальные суммы: PIT-1 = (11; 16; 20), PRL = (34; 11; 2). Формула ожидаемых частот: $E_{ij} = (\Sigma$ по строке$_i \times \Sigma$ по столбцу$_j) / N$.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Суржикова, Е. С. Особенности полиморфизма генов PIT-1, PRL у коров кавказской бурой породы, разводимой в республике Дагестан / Е. С. Суржикова, Т. Н. Михайленко Д. М. Елагина // Сборник научных трудов КНЦЗВ. – 2022. - № 11 (1). – С. 32-36. - DOI: 10.48612/sbornik-2022-1-7

2. Чижова Л. Н. Оценка генетического потенциала молодняка молочного скота по маркерным генам CSN3, GH, PIT-1, PRL / Л. Н. Чижова, Е. С. Суржикова, Т. Н. Михайленко // Вестник курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2020. - № 6. – С. 40-46.

3. Крупин Е. О. Биохимические показатели белкового и углеводного обмена у коров различных генотипов / Е. О. Крупин, М. Ш. Тагиров // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2018. – Т.233(1). – С. 83-88.

4. Krupin E. O. Influence of CSN3, LGB, PRL, GH, TG5 genes alleles on dairy productivity and energy value of cow's milk / E. O. Krupin, S. K. Shakirov // Carpathian Journal of Food Science and Technology. – 2019. - № 11(4). – С. 104-115.

5. Оздемиров А. А. Полиморфизм генов PIT-1, PRL, GH молочного скота кавказской бурой породы, разводимого в различных природно-экологических зонах Республики Дагестан / А. А. Оздемиров, М. И. Селионова, Л. Н. Чижова, А. А. Хожоков, Е. С. Суржикова, Д. М. Рамазанова // Юг-России: экология, развитие. – 2020. - №15. (2). – С. 165-171.

6. Othman E. Othman. Genetic polymorphism of three genes associated with milk

trait in Egyptian buffalo / Othman E. Othman, Fawzia A. Zayed, Ali A. El Gawead, Medhat R.A. El-Rahman // Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. – 2011. - V. 9, № 2, Pp. 97-102. https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2011.09.002
7. Abbas Doosti. Molecular study of PIT1 gene polymorphism in Holstein and Iranian native cattle September / Abbas Doosti, Islamic Azad, Asghar Arshi, Behnam Momeni // African Journal of Agricultural Research. - 2011. - № 6(19). – С. 4467-4470.
8. Daniela Elena Ilie. Polymorphism of the Prolactin (PRL) Gene and Its Effect on Milk Production Traits in Romanian Cattle Breeds / Daniela Elena Ilie, Alexandru Eugeniu Mizeranschi, Ciprian Valentin Mihali, Radu Ionel Neamț, Ludovic Toma Cziszter, Mihai Carabaș, Andrei Cristian Grădinaru // Veterinary Sciences. – 2023. - № 10(4). P. 275. doi: 10.3390/vetsci10040275
9. Moody D. E. Restriction fragment length polymorphism in amplification products of the bovine PIT1 gene and assignment of PIT1 to bovine chromosome 1 / Moody D. E, Pomp D, Barendse W // Anim Genet. – 1995. - №26(1) P. 45–47. doi:10.1111/j.1365-2052.1995.tb02620.x.
10. Woollard J. HinfI polymorphism at the bovine PIT1 locus. / J. Woollard, C. B. Schmitz, A. E. Freeman, C. K. Tuggle // Anim Sci. – 1994. - № 72(12):3267. doi:10.2527/1994.72123267x.
11. Mitra A. Polymorphisms at growth-hormone and prolactin loci in Indian cattle and buffalo / Mitra A, Schlee P, Balakrishnan CR, Pirchner F // Anim Breed Genet. – 1995. - № 112(1-6). – P. 71–74. doi:10.1111/j.1439-0388.1995.tb00543.x.
12. Оздемиров А. А. Полиморфизм генов CAST, GH, GDF9 овец дагестанской горной породы / А. А. Оздемиров, Л. Н. Чижова, А. А. Хожоков, Е. С. Суржикова, Г. Д. Догеев, С. Ш. Абдулмагомедов // Юг России: экология, развитие. – 2021. - № 16 (2). – С. 39-44.
13. Оздемиров А. А. Анализ полиморфизмов в генах, ассоциируемых с молочной продуктивностью у районированных пород крупного рогатого скота, выращиваемых в условиях республики Дагестан / А. А. Оздемиров, А. А. Хожоков, З. М. Гусейнова, М. А. Даветеева // Юг России: экология, развитие. – 2022. - № 3 (68). С. 196-200.

REFERENCES

1. Surzhikova, E. S. Features of the polymorphism of the PIT-1, PRL genes in Caucasian Brown cows bred in the Republic of Dagestan / E. S. Surzhikova, T. N. Mikhailenko, D. M. Elagina // Collection of scientific papers of the Kursk Scientific Center of Veterinary Medicine.2022:11(1):32-36. - DOI: 10.48612/sbornik-2022-1-7 (In Russ.)
2. Chizhova, L. N. Evaluation of the genetic potential of young dairy cattle by the marker genes CSN3, GH, PIT-1, PRL / L. N. Chizhova, E. S. Surzhikova, T. N. Mikhailenko // Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy.2020:6:40-46. (In Russ.)
3. Krupin E. O. Biochemical indicators of protein and carbohydrate metabolism in cows of different genotypes / E. O. Krupin, M. Sh. Tagirov // Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman.2018:233:83-88. (In Russ.)
4. Krupin E. O. Influence of CSN3, LGB, PRL, GH, TG5 gene alleles on dairy productivity and energy value of cow's milk / E. O. Krupin, S. K. Shakirov // Carpathian Journal of Food Science and Technology.2019:11 (4):104-115. (In Russ.)
5. Ozdemirov A. A. Polymorphism of the PIT-1, PRL, GH genes in Caucasian Brown dairy cattle bred in different natural and ecological zones of the Republic of Dagestan / A. A. Ozdemirov, M. I. Selionova, L. N. Chizhova, A. A. Khozhokov, E. S. Surzhikova, D. M. Ramazanova // South of Russia: ecology, development.2020:15. (2):165-171. (In Russ.)
6. Othman E. Othman. Genetic polymorphism of three genes associated with milk trait in Egyptian buffalo / Othman E. Othman, Fawzia A. Zayed, Ali A. El Gawead, Medhat R.A. El-Rahman // Journal of Genetic Engineering and Biotechnology.2011:9:97 -102. - DOI 10.1016/j.jgeb.2011.09.002
7. Abbas Doosti. Molecular study of PIT1 gene polymorphism in Holstein and Iranian

native cattle September / Abbas Doosti, Islam Azad, Asghar Arshi, Behnam Momeni // African Journal of Agricultural Research.2011:6(19):4467-4470.
8. Daniela Elena Ilie. Polymorphism of the Prolactin (PRL) Gene and Its Effect on Milk Production Traits in Romanian Cattle Breeds / Daniela Elena Ilie, Alexandru Eugeniu Mizeranschi, Ciprian Valentin Mihali, Radu Ionel Neamț, Ludovic Toma Cziszter, Mihai Carabaș, Andrei Cristian Grădinaru // Veterinary Sciences.2023:10(4):275. DOI 10.3390/vetsci10040275
9. Moody D. E. Restriction fragment length polymorphism in amplification products of the bovine PIT1 gene and assignment of PIT1 to bovine chromosome 1 / Moody D. E, Pomp D, Barendse W // Anim Genet.1995:26(1):45–47. DOI -10.1111/ j.1365-2052.1995.tb02620.x
10. Woollard J. HinfI polymorphism at the bovine PIT1 locus. / J. Woollard, C. B. Schmitz, A. E. Freeman, C. K. Tuggle // Anim Sci.1994:72(12):3267. DOI - 10.2527/1994.72123267x
11. Mitra A. Polymorphisms at growth hormone and prolactin loci in Indian cattle and buffalo / Mitra A, Schlee P, Balakrishnan CR, Pirchner F // Anim Breed Genet. 1995:112(1-6):71–74. DOI 10.1111/j.1439-0388.1995.tb00543.x
12. Ozdemirov A. A. Polymorphism of the CAST, GH, GDF9 genes in Dagestan mountain sheep / A. A. Ozdemirov, L. N. Chizhova, A. A. Khozhokov, E. S. Surzhikova, G. D. Dogeev, S. Sh. Abdulmagomedov // South of Russia: ecology, development.2021:16 (2):39-44. (In Russ.)
13. Ozdemirov A. A. Analysis of polymorphisms in genes associated with milk productivity in zoned cattle breeds raised in the Republic of Dagestan / A. A. Ozdemirov, A. A. Khozhkov, Z. M. Guseynova, M. A. Daveteeva // South of Russia: ecology, development.2022: 3(68):196-200. (In Russ.)

УДК: 639.371.7:57.086.13
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2025.4.491

ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДОВ КРИОКОНСЕРВАЦИИ СПЕРМЫ АФРИКАНСКОГО КЛАРИЕВОГО СОМА (*CLARIAS GARIEPINUS*) ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ НА ПРЕДПРИЯТИЯХ АКВАКУЛЬТУРЫ

Теплякова А.В. * – канд. биол. наук, науч. сотр. (ORCID 0000-0001-9227-3206); **Григорьев В.А. –** канд. биол. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-3262-4198)

ФГБУН «Федеральный исследовательский центр Южный научный центр Российской академии наук»

*firsovaangelina1991@mail.ru

Ключевые слова: *аквакультура, африканский клариевый сом, криоконсервация, репродуктивные клетки, криопротектор, биотехнология.*

Key words*: aquaculture, African catfish, cryopreservation, reproductive cells, cryoprotectant, biotechnology.*

Финансирование: *Публикация подготовлена в рамках реализации ГЗ ЮНЦ РАН на 2025 г., № госрегистрации 125011200145-8.*

Поступила: 18.07.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Африканский клариевый сом (*Clarias gariepinus*) – один из перспективных объектов современной аквакультуры. В естественной среде обитания у сома сезон размножения коррелирует с периодами максимального количества осадков. Криоконсервация спермы в аквакультуре широко используется для круглогодичного обеспечения гаметами и последующего оплодотворения вне репродуктивных сезонов. Целью исследований явилась оптимизация методов криоконсервации спермы клариевого сома для использования на предприятиях аквакультуры юга России. Исследовано два состава среды-разбавителя и экспериментальная установка для контролируемого замораживания спермы сома в парах жидкого азота. Скоростной режим замораживания спермы рыб является видоспецифичным и подбирается для каждого вида рыб экспериментальным путем. Использование экспериментальной криокамеры из пенополистирола внутренним размером (В×Ш×Д) 21×20×24,5 см и толщиной стенки 5,5 см позволило провести глубокое замораживание репродуктивных клеток сома со скоростью охлаждения 6,5 градусов в минуту до температуры –80°С с дальнейшим погружением в жидкий азот (t= –196°С). В первом варианте опыта в состав среды-разбавителя входил базовый раствор (NaCl, KCl, $CaCl_2$, $NaHCO_3$) и диметилсульфоксид в концентрации 5 %. Во втором варианте опыта к этому составу была добавлена глюкоза в концентрации 18 г/л. Среднее время жизни сперматозоидов после оттаивания в опыте без глюкозы составило 46 сек., что на 5 сек. меньше, чем в опыте с глюкозой. В опыте с добавлением глюкозы доля по-

движных сперматозоидов составила 40 %, тогда как в опыте без глюкозы лишь 20 %. Показано, что добавление к среде-разбавителю глюкозы обеспечивает наилучшую выживаемость спермы африканского сома по показателям подвижности после оттаивания.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Растущий спрос на рыбу и морепродукты и истощение запасов дикой рыбы стимулировали интерес к аквакультуре как к устойчивой альтернативе производства продуктов питания [1]. В связи с чем в рыбоводстве возникла необходимость расширения ассортимента рыбной продукции, произведенной в искусственных условиях.

Согласно исследованиям, африканский клариевый сом – один из перспективных объектов современной аквакультуры [2]. Он известен своей устойчивостью к болезням и стрессу, высокой скоростью роста, хорошей адаптацией к широкому диапазону параметров окружающей среды. Наличие наджаберного органа для дыхания атмосферным кислородом позволяет выращивать его при увеличенной плотности посадки [3].

В естественной среде обитания у сома прерывистый годовой репродуктивный цикл, а сезон размножения коррелирует с периодами максимального количества осадков [4], наилучшего качества сперма отбирается именно в период естественного нереста [5]. При содержании сомов в искусственных условиях период их нереста не всегда совпадает с технологическим процессом предприятия, от этого качество получаемой спермы значительно снижается. В связи с этим, криоконсервация репродуктивных клеток самцов рыб является одним из основных способов решения проблем, связанных с обеспечением рыбоводного хозяйства высококачественной спермой. Криоконсервация может помочь в поддержании популяции путем использования большего количества спермы и при этом содержать меньшее количество самцов в маточном стаде [6]. Использование криоконсервированной спермы рыб является самым простым и недорогим методом предотвращение пагубного влияния инбридинга и генетического дрейфа, а также сохранения геномов.

Криоконсервация клеток включает несколько факторов, которые необходимо отрегулировать для каждого вида рыб для улучшения криовыживаемости спермы [7]. Результат глубокого замораживания будет зависеть от качества свежей спермы, состава базового разбавителя, типа криопротектора и его концентрации, а также скорости замораживания и оттаивания [8].

Кривая охлаждения является значимым фактором в процессе криоконсервации, который важен для снижения метаболизма сперматозоидов и может существенно повлиять на выживаемость сперматозоидов после размораживания [9]. В настоящее время разработаны программируемые устройства для криоконсервации спермы, которые позволяют выбирать желаемую кривую охлаждения. Однако они недостаточно мобильны, а их стоимость очень высока по сравнению с более простыми методами криоконсервации, которые используются в полевых условиях [10]. При криоконсервации семени сельскохозяйственных животных в полевых условиях обычно используют простые материалы для медленного охлаждения, такие как термоконтейнеры со льдом или бытовые холодильники, а для замораживания используются пенопластовые коробы с жидким азотом [11]. Несмотря на их низкую стоимость и мобильность, проблемой этих методов является отсутствие стандартизации кривой охлаждения из-за большого разброса в размере и толщине короба, времени замораживания, внешних условий использования, что приводит к разбросу результатов криоконсервации [10].

Вторым важным моментом при разработке методики криоконсервации спермы африканского сома является подбор криопротектора. Сперма африканского сома была впервые успешно криоконсервирована Steyn с соавторами [12], которые получили 40 % подвижности сперматозоидов через 24 часа хранения клеток в

жидком азоте. Позже было показано, что эффективной является среда, включающая глюкозу с диметилсульфоксидом (ДМСО) [13]. Несмотря на достигнутые успехи в криоконсервации репродуктивных клеток африканского сома, полученные результаты часто невоспроизводимы и не всегда обеспечивают высокий процент выживаемости дефростированных сперматозоидов. Это связано с тем, что на процесс криоконсервации оказывает влияние большое количество факторов: физиологическое состояние производителей, качество репродуктивных клеток, индивидуальные особенности рыб разных популяций, физические факторы и т.д. [14]. В связи с этим, в настоящее время актуальным направлением исследований является адаптирование технологий криоконсервации спермы клариевого сома, разработанных в странах с его естественной средой обитания, для условий рыбоводных предприятий юга России, путём подбора оптимального состава криопротекторной среды.

В связи с вышеизложенным, целью исследований явилась оптимизация методов криоконсервации спермы клариевого сома для использования на предприятиях аквакультуры юга России.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Материалом исследований служила сперма африканского сома (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822), отобранная от двух самцов. Самцы-производители содержались в установке замкнутого водоснабжения. Температура воды в бассейне с самцами африканского сома составляла 21 °С. Для получения репродуктивных клеток предварительно была проведена гормональная инъекция гипофизом карпа с дозой 4,5 мг на 1 кг массы тела.

Из-за биологических особенностей репродуктивной системы самцов сома, семенники получали у рыб, предварительно анестезированных и умерщвленных в соответствии с международными нормами лабораторной практики. Полость тела осторожно вскрывали стерильным скальпелем, чтобы не повредить семенники. Далее семенники извлекали, обтирали фильтровальной бумагой и помещали в чашку Петри. Для высвобождения спермы из семенников делали несколько надрезов. Вытекшую сперму собирали стерильным шприцем. Для исследования использовали сперму сома с активностью 4 и 5 баллов, определяемую по шкале Персова [15]. Качество спермы оценивали до и после глубокого замораживания, для этого определяли процент сперматозоидов с поступательными и колебательными движениями и время их движения. Процентное содержание подвижных сперматозоидов определяли с помощью бинокулярного микроскопа Микмед-5 с видеоокуляром НВ-200 (ЛОМО, Россия) после добавления к сперме воды в качестве активирующего раствора в соотношении 1:1000. Время движения сперматозоидов определяли от момента активации спермы водой до прекращения движения последних сперматозоидов в поле зрения микроскопа с использованием секундомера.

В состав базовой среды-разбавителя входили NaCl (6,5 г/л), KCl (0,25 г/л), $CaCl_2$ (0,2 г/л), $NaHCO_3$ (2 г/л). В качестве основного компонента криопротектора использовали диметилсульфоксид (ДМСО). В первом варианте опыта применяли базовую среду-разбавитель и ДМСО в концентрации 5 %. Во втором варианте опыта к этому составу была добавлена глюкоза в концентрации 18 г/л. Разбавление спермы проводили в соотношении 1:1 и оставляли на эквилибрацию в течение 12 минут при температуре +4 °С, далее распределяли по трем маркированным криопробиркам с завинчивающимися крышками объемом 2 мл. Перед замораживанием оценивали качество спермы в каждой пробирке по 3 раза (n=9) во всех вариантах опыта.

Пробирки с материалом замораживали двухэтапным протоколом замораживания: сначала медленным охлаждением до температуры –80 °С с дальнейшим быстрым погружением проб в жидкий азот (–196 °С). Первый этап замораживания проводили с использованием эксперимен-

тальной установки. Для этого использовали криокамеру из пенополистирола внутренним размером (В×Ш×Д) 21×20×24,5 см и толщиной стенки 5,5 см. На дно помещали перфорированную полку высотой 8 см, которая позволяет установить штатив с криопробирками в парах азота. Жидкий азот наливали в криокамеру до отметки на 1,5 см ниже уровня полки, после чего криокамеру закрывали крышкой для равномерного охлаждения камеры и стабилизации температруры (5 мин.). Для измерения температуры использовали цифровой двухканальный термометр GM1312 с датчиками K-типа (диапазон измерения температуры от –200 ºС до +1372 ºС). Один датчик температуры помещали в пробирку, а второй датчик находился в боксе, в соответствии с рисунком 1. Таким образом фиксировали температуру исследуемого материала и внешнюю температуру в боксе. Скорость охлаждения определяли при помощи секундомера. Бокс с пробирками и установленными термопарами помещали в подготовленную криокамеру с жидким азотом и плотно закрывали крышкой.

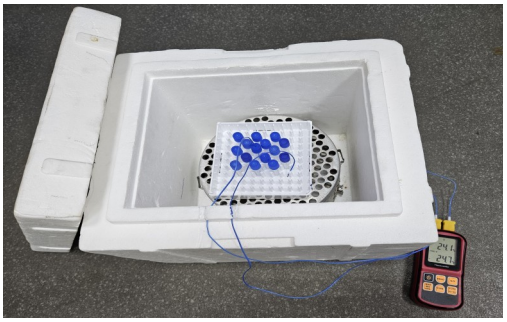


Рисунок 1 – Экспериментальная установка для контролируемого замораживания в парах жидкого азота.

После достижения температуры в пробирке с материалом отметки –80 °С, все пробирки переносили пинцетом в стакан для замораживания и опускали его в сосуд Дьюара с жидким азотом (–196 °С). Оттаивание проб проводили на водяной бане при температуре +38 °С в течение 1 минуты и далее до полного оттаивания проб при комнатной температуре. После оттаивания спермы проводилась трехкратная оценка качественных показателей репродуктивных клеток во всех опытных вариантах.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Для проведения эксперимента было отобрано и проинъецировано два самца африканского сома. После оценки качества полученной спермы выяснили, что сперма у самца № 2 непригодна для криоконсервации, так как доля живых сперматозоидов составила 30 % (табл. 1). В связи с чем было принято решение использовать сперму лишь от самца № 1. Выбор был сделан в пользу наиболее репрезентативного образца, соответствующего строгим критериям отбора для достоверной оценки эффективности методики криоконсервации. Проведение исследований на сперме высокого качества позволило исключить влияние низкокачественного материала на результаты. Использование спермы от одного самца-производителя позволило минимизировать влияние индивидуальных различий и обеспечить стандартизацию условий при исследовании двух составов среды-разбавителя. Данные исследования носили пилотный характер. Криоконсервация спермы от одного самца-производителя рассматривалась как модель исследования, в дальнейшем же эксперименты будут продолжены и проведены с использованием большего количества спермы, полученной от разных самцов, для достоверного подтверждения пригодности технологии заморозки репродуктивных клеток для данного вида рыб.

Процесс первого этапа замораживания (медленного) от +18 °С до –80 °С занял 15 минут. Кривая охлаждения представлена на рисунке 2. Скоростной режим замораживания спермы рыб является видоспецифичным и подбирается для каждого вида рыб экспериментальным путем. Исходя из полученных данных, определили среднюю скорость охлаждения замораживаемого материала, которая составила 6,5 градуса в минуту. Подвижность сперматозоидов африканского сома до и после размораживания представлены в табл. 2.

Таблица 1 – Рыбоводно-биологические показатели самцов африканского сома

Показатель	Самец № 1	Самец № 2
Масса самца, г	1460	1215
Доза гипофиза на самца, мг	6,6	5,5
Доля подвижных сперматозоидов, %	90 ± 1	30 ± 2
Время жизни сперматозоидов, с	60 ± 3	35 ± 3

Таблица 2 – Подвижность сперматозоидов африканского сома до и после размораживания

Вариант опыта	До замораживания (после эквилибрации)		После оттаивания	
	% подвижности	время жизни, с	% подвижности	время жизни, с
Нативная сперма	90 ± 1	60 ± 3	0	0
ДМСО 5%	90 ± 1	42 ± 4	20 ± 5	46 ± 2
ДМСО 5% + глюкоза	90 ± 1	55 ± 2	40 ± 1	51 ± 1

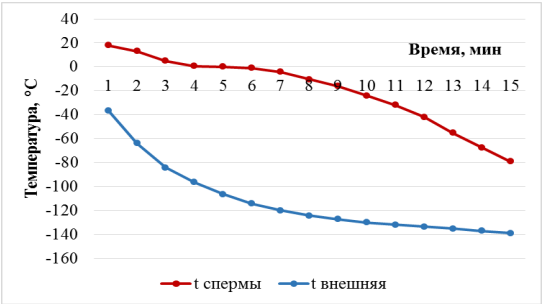


Рисунок 2 – Кривая скорости охлаждения репродуктивных клеток в экспериментальной установке.

После эквилибрации спермы совместно с криопротектором наблюдали снижение подвижности сперматозоидов. Наибольшее снижение подвижности клеток отмечено в варианте опыта без добавления глюкозы, где время подвижности составило 42 секунды. Добавление 5 % ДМСО в криосреду в 1,4 раз сокращает время подвижности сперматозоидов африканского сома перед замораживанием. Проведенное исследование доказывает негативное влияние ДМСО на сперму африканского сома, проявляющееся в ухудшении ее рыбоводных качеств. Использование глюкозы в составе криопротектора во время эквилибрации позволяет сохранить подвижность сперматозоидов на уровне, приближенном к нативной сперме.

Добавление к протектору глюкозы обеспечивает наилучшую защиту спермы в отношении параметров подвижности после размораживания. Так, в опыте с добавлением глюкозы, доля подвижных сперматозоидов составила 40 %, тогда как в опыте без глюкозы лишь 20 %. Ранее учеными было доказано, что сахара в составе криопротектора стабилизируют мембраны, увеличивают осмоляльность внеклеточного пространства, что приводит к дегидратации клеток и снижению частоты образования внутриклеточного льда [16].

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, показана возможность использования мобильной криокамеры для криоконсервации спермы африканского сома в условиях рыбоводных пред-

приятий. Скорость охлаждения 6,5 градусов в минуту и использование в составе криопротектора ДМСО (5 %) и глюкозы (18 г/л) позволило получить 40 % живых клеток после оттаивания.

В связи с тем, что скорость охлаждения для каждого вида рыб специфична, необходимо провести дальнейшие исследования по подбору скоростного режима охлаждения спермы африканкого сома. Регулировать скорость охлаждения в экспериментальной криокамере возможно путем повышения или понижения уровня жидкого азота.

Проведенные предварительные исследования показали, что содержание в составе криопротектора глюкозы в концентрации 18 г/л позволяет в 2 раза увеличть долю подвижных сперматозоидов африканского сома после криоконсервации (40 %) относительно варианта опыта, где глюкоза в составе криопротектора отсутствует (20 %). Глюкоза играет важную роль в защите клеток от криоповреждений, однако эффективна в узком диапазоне концентраций, в связи с чем перспективны исследования по подбору оптимальной концентрации глюкозы в составе криопротектора для спермы африканского сома.

OPTIMIZATION OF AFRICAN CATFISH (*CLARIAS GARIEPINUS*) SPERM CRYOPRESERVATION METHODS FOR FIELD USE IN AQUACULTURE ENTERPRISES

Teplyakova A.V. – PhD (biological), researcher (ORCID 0000-0001-9227-3206); **Grigiriev V.A.** – PhD (biological), Leading Researcher (ORCID 0000-0002-3262-4198).

Federal State Budget Institution of Science «Federal Research Centre the Southern Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences»

*firsovaangelina1991@mail.ru

Financing: *The publication was prepared within the framework of the implementation of the State Task Force of the Southern Scientific Center of the Russian Academy of Sciences for 2025, state registration number 125011200145-8.*

ABSTRACT

African sharptooth catfish (Clarias gariepinus) is one of the promising objects of modern aquaculture. In the natural habitat, the breeding season of catfish correlates with periods of maximum rainfall. Cryopreservation of sperm in aquaculture is widely used to provide gametes for fertilization year-round outside the reproductive seasons. The aim of the research was to optimize the methods of cryopreservation of sharptooth catfish sperm for use in aquaculture enterprises in the south of Russia. Two cryoprotectant compositions and an experimental setup for controlled freezing of catfish sperm in liquid nitrogen vapor were studied. The speed mode of freezing fish sperm is species -specific and is selected for each fish species experimentally. Using an experimental cryochamber made of expanded polystyrene with the internal dimensions (H×W×D) of 21×20×24.5 cm and a wall thickness of 5.5 cm made it possible to deep freeze the reproductive cells of catfish at a cooling rate of 6.5 degrees per minute to a temperature of –80°C with further immersion in liquid nitrogen (t= –196°C). In the first version of the experiment, the cryoprotector included a basic solution (NaCl, KCl, $CaCl_2$, $NaHCO_3$) and dimethyl sulfoxide at a concentration of 5%. In the second version of the experiment, glucose at a concentration of 18 g/l was added to this composition. The average lifetime of spermatozoa after thawing in the experiment without glucose was 46 sec., which is 5 sec. less than in the experiment with glucose. In the experiment with the addition of glucose, the proportion of motile spermatozoa was 40%, while in the experiment without glucose it was only 20%. It has been shown that addition of glucose to the protector provides the best survival of African catfish sperm in terms of motility after thawing.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Marinchenko, T. E. Aquaculture in The World and Russia: State and Prospects / T. E. Marinchenko // IOP Conference Series:

Earth and Environmental Science. — 2021. — Vol. 715, Art. No. 012052. —P. 1–8. DOI:10.1088/1755-1315/715/1/012052. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=45790413.

2. Сафаров, М. М. Африканский сом один из перспективных объектов аквакультуры / М. М. Сафаров, М. Ш. К. Шомуратова // Science and innovation. — 2024. — Vol. 3, No. Special Issue 40. — P. 558–561. Режим доступа: https://doi.org/10.5281/zenodo.11483634.

3. Калайда, М. Л. Клариевый сом Clarias Gariepinus при задачах искусственного воспроизводства / М. Л. Калайда, Е.С. Пиганов, А. А. Калайда, М. Ф. Хамитова // Состояние и пути развития аквакультуры в Российской Федерации. — Материалы V Национальной научно-практической конференции. — Саратов: ООО «Амирит», 2020. — С.108–113. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44240870.

4. Власов, В. А. Воспроизводство и выращивание клариевого сома (Clarias gariepinus) в установках с замкнутым водообеспечением (УЗВ) / В. А. Власов // Рыбоводство и рыбное хозяйство. — 2012. — № 7. — С. 26–35. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23148806.

5. Muchlisin, Z. Exploration of natural cryoprotectants for cryopreservation of African catfish, Clarias gariepinus, Burchell 1822 (Pisces: Clariidae) spermatozoa / Z. Muchlisin, W. N. Nadiah, N. Nadiya, N. Fadli, A. Hendri, M. Khalil, M. Siti-Azizah // Czech Journal of Animal Science. — 2015. — V. 60. — P. 10–15. DOI 10.17221/7906-CJAS.

6. Betsy, C. Cryopreservation and Its Application in Aquaculture / C. Betsy, K. S. Sampath. – In book: Animal Reproduction. — 2021. — P. 1-24. DOI10.5772/intechopen.99629.

7. Nynca, J. Effect of cryopreservation on sperm motility parameters and fertilizing ability of brown trout semen / J. Nynca, G. Dietrich, S. Dobosz, J. Grudniewska, A. Ciereszko // Aquaculture. — 2014. — Vol. 433. — P. 62–65. DOI:10.1016/j.aquaculture.2014.05.037.

8. Mansour, N. Effect of extender composition and freezing rate on post-thaw motility and fertility of Arctic char, Salvelinus alpinus (L.), spermatozoa / N. Mansour, G. F. Richardson, M. A. McNiven // Aquaculture Research. — 2006. — Vol. 37. — P. 862-868. DOI 10.1111/j.1365-2109.2006.01503.x.

9. Белая, М. М. Влияние скорости замораживания на рыбоводные качества спермы осетровых рыб / М. М. Белая, А. А. Красильникова // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. — 2019. — № 1. — С. 83–90. DOI 10.24143/2073-5529-2019-1-83-90. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=37115566.

10. Abud, C. O. G. Comparison between the conventional and automated systems of semen bovine cryopreservation / C. O. G. Abud, L. J. Abud, J. C. O. Neto, M. A. N. Dode, J. R. B. Sereno, C. F. Martins // Ciencia Animal Brasileira. — 2014. — Vol. 15, No. 1. — P. 32–37. DOI 10.5216/cab.v15i1.12233.

11. Dias E. A. R. Evaluation of cooling and freezing systems of bovine semen / E. A. R. Dias, S. P. Campanholi, G. F. Rossi, C. D. P. F. Dell'Aqua, J. A. Dell'Aqua, F. O. Papa, M. F. Zorzetto, C. C. P. De Paz, L. Z. Oliveira, M. E. Z. Mercadante, F. M. Monteiro // Animal Reproduction Science. — 2018. — Vol. 195. — P. 102–111. DOI 10.1016/j.anireprosci.2018.05.012.

12. Steyn, G. J. Preliminary investigations on the cryopreservation of Clarias gariepinus (Clariidae: pisces) sperm / G. J. Steyn, J. H. J. Van Vuren, H. J. Schoonbe, N.H. Chao // Water SA. — 1985. — Vol. 11, No. 1. — P. 15–18. Режим доступа: https://www.wrc.org.za/wp-content/uploads/mdocs/WaterSA_1985_11_0332.PDF

13. Urbanyi, B. Effect of extenders on sperm cryopreservation of African catfish, Clarias gariepinus (Burchell) / B. Urbanyi, A. Horvath, Z. Varga, L. Horvath // Aquaculture Research. — 2001. — Vol. 30. — P.145–151. DOI 10.1046/j.1365-2109.1999.00313.x.

14. Богатырева, М. М. Оптимизация методов криоконсервации спермы для сохра-

нения генофонда осетровых рыб: дис. ... канд. биол. наук: 03.02.06 / М. М. Богатырева. — Астраханский государственный технический университет. — Астрахань: АГТУ, 2010. — 126 с. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=19108488.

15. Chebanov, M. S. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper / M. S. Chebanov, E. V. Galich. — Ankara, FAO, 2013. — P. 558.

16. Nynca J., Utility of different sugar extenders for cryopreservation and post-thaw storage of sperm from Salmonidae species / J. Nynca, S. Judycka, E. Liszewska, S. Dobosz, J. Grudniewska, K. Arai, T. Fujimoto, A. Ciereszko // Aquaculture, 2016. — Vol. 464. — P. 340–348. DOI 10.1016/j.aquaculture.2016.07.014.

REFERENCES

1. Marinchenko, T. E. Aquaculture in The World and Russia: State and Prospects / T. E. Marinchenko // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2021:715: 012052. – DOI:10.1088/1755-1315/715/1/012052. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=45790413.

2. Safarov, M. M. African catfish as one of the promising objects of aquaculture / M. M. Safarov, M. Sh. K. Shomuratova // Science and innovation.2024: 3(40):558–561. URL: https://doi.org/10.5281/zenodo.11483634 (In Russ.)

3. Kalaida, M. L. Clarias catfish Clarias Gariepinus in artificial reproduction tasks / M. L. Kalaida, E. S. Piganov, A. A. Kalaida, M. F. Khamitova // The state and ways of development of aquaculture in the Russian Federation. - Proceedings of the V National Scientific and Practical Conference. - Saratov: OOO "Amirit".2020.108-113. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44240870 (In Russ.)

4. Vlasov, V. A. Reproduction and cultivation of Clarias catfish (Clarias gariepinus) in recirculating aquaculture systems (RAS) / V. A. Vlasov // Fish farming and fish industry.2012:7:26–35. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23148806 (In Russ.)

5. Muchlisin, Z. Exploration of natural cryoprotectants for cryopreservation of African catfish, Clarias gariepinus, Burchell 1822 (Pisces: Clariidae) spermatozoa / Z. Muchlisin, W. N. Nadiah, N. Nadiya, N. Fadli, A. Hendri, M. Khalil, M. Siti-Azizah // Czech Journal of Animal Science. 2015:60:10–15. – DOI 10.17221/7906-CJAS.

6. Betsy, C. Cryopreservation and Its Application in Aquaculture / C. Betsy, K. S. Sampath. – In book: Animal Reproduction.2021:1-24. – DOI 10.5772/intechopen.99629.

7. Nynca, J. Effect of cryopreservation on sperm motility parameters and fertilizing ability of brown trout semen / J. Nynca, G. Dietrich, S. Dobosz, J. Grudniewska, A. Ciereszko // Aquaculture.2014:433:62–65. DOI 10.1016/j.aquaculture.2014.05.037.

8. Mansour, N. Effect of extender composition and freezing rate on post-thaw motility and fertility of Arctic char, Salvelinus alpinus (L.), spermatozoa / N. Mansour, G. F. Richardson, M. A. McNiven // Aquaculture Research.2006: 37:862-868. – DOI 10.1111/j.1365-2109.2006.01503.x.

9. Belaya, M. M. Effect of freezing rate on fish-breeding qualities of sturgeon sperm / M. M. Belaya, A. A. Krasilnikova // Bulletin of Astrakhan State Technical University. Series: Fisheries.2019:1:83–90. – DOI 10.24143/2073-5529-2019-1-83-90. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=37115566 (In Russ.)

10. Abud, C. O. G. Comparison between the conventional and automated systems of semen bovine cryopreservation / C. O. G. Abud, L. J. Abud, J. C. O. Neto, M. A. N. Dode, J. R. B. Sereno, C. F. Martins // Ciencia Animal Brasileira.2014:15(1):32–37. – DOI 10.5216/cab.v15i1.12233.

11. Dias E. A. R. Evaluation of cooling and freezing systems of bovine semen / E. A. R. Dias, S. P. Campanholi, G. F. Rossi, C. D. P. F. Dell'Aqua, J. A. Dell'Aqua, F. O. Papa, M. F. Zorzetto, C. C. P. De Paz, L. Z. Oliveira, M. E. Z. Mercadante, F. M. Monteiro // Animal Reproduction Science.2018:195:102–111. DOI 10.1016/j.anireprosci.2018.05.012.

12. Steyn, G. J. Preliminary investigations on

the cryopreservation of Clarias gariepinus (Clariidae: pisces) sperm / G. J. Steyn, J. H. J. Van Vuren, H. J. Schoonbe, N.H. Chao // Water SA.1985:11(1):15–18. URL: https://www.wrc.org.za/wp-content/uploads/mdocs/WaterSA_1985_11_0332.PDF.

13.Urbanyi, B. Effect of extenders on sperm cryopreservation of African catfish, Clarias gariepinus (Burchell) / B. Urbanyi, A. Horvath, Z. Varga, L. Horvath // Aquaculture Research.2001:30:145–151. – DOI 10.1046/j.1365-2109.1999.00313.x.

14.Bogatyreva, M. M. Optimization of sperm cryopreservation methods for preserving the sturgeon gene pool: diss... Cand. of Biological Sciences: 03.02.06 / M. M. Bogatyreva. — Astrakhan State Technical University. — Astrakhan: ASTU, 2010. — 126 p. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=19108488 (In Russ.)

15.Chebanov, M. S. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper / M. S. Chebanov, E. V. Galich. — Ankara, FAO, 2013:558.

16.Nynca, J. Utility of different sugar extenders for cryopreservation and post-thaw storage of sperm from Salmonidae species / J. Nynca, S. Judycka, E. Liszewska, S. Dobosz, J. Grudniewska, K. Arai, T. Fujimoto, A. Ciereszko // Aquaculture.2016:464:340–348. – DOI 10.1016/j.aquaculture.2016.07.014.

УДК: 575.113.2:636.7.082.453.52
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.500

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ *FSHR* И *INHBA* С КАЧЕСТВОМ ЭЯКУЛЯТА У СОБАК РАЗЛИЧНЫХ ПОРОД

Богданова С.С. – лаб., лаборатории биологии развития (ORCID 0009-0007-9411-9887); **Никиткина Е.В.** – канд. биол. наук., ст. науч. сотр. лаборатории биологии развития (ORCID 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»

* Sonikbogdanova@mail.ru

Ключевые слова: *SNP, гены-кандидаты, исследования генома, сперма собак, полиморфизм генов, INHBA и FSHR.*

Key words: *SNP, candidate genes, genome studies, dog sperm, gene polymorphism, INHBA, and FSHR*

Финансирование: *Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки, проект № 121052600354-7.*

Поступила: 11.08. 2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Качество спермы играет решающую роль в успешной реализации программ разведения, особенно там, где практикуется искусственное осеменение. Кобели с отличным качеством спермы имеют хорошую фертильность и могут давать более крупные пометы, так же их эякулят лучше переносит консервацию. Целью этого исследования является экспериментальное и аналитическое подтверждение гипотезы связи SNP экзонов генов-кандидатов *FSHR* и *INHBA* с качеством спермы кобелей. В ходе математического анализа полученных нами эксперементальных данных геномных ассоциаций (GWAS) удалось идентефицировать геномные области и индивидуальные вариации, связанные с производственными признаками у собак. При подборе праймеров для амплификации исследуемого 2 экзона гена *FSHR* и 9, 10 экзонов гена *INHBA* использовалась референсная последовательность генома домашней собаки (*Canis familiaris*) из международной базы генетических данных NCBI. Подбор праймеров осуществлялся с помощью приложения Primer-BLAST интегрированного в NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/). Праймеры сконструированы ООО «Синтол» по индивидуальному запросу. Амплификация проводилась на термоциклере С-1000 (BioRad). Секвенирование амплифицированных фрагментов осуществляли с использованием технологии нанопорового секвенирования на приборе MinION. Для приготовления библиотек ДНК применяли набор «Rapid Sequencing Kit. Определение вариантов производилось с применением программы longshot (v. 1.0.0). Результаты анализа демонстрируют статистически значимое влияние ($p<0,01$) генов *INHBA2* и *FSHR*, содержащих SNP-мутации в изученных локусах, на качество эякулята у собак. Эти находки вносят вклад в малоизученную область генетики

домашних животных-компаньонов. Полученные данные открывают новые возможности для диагностики причин бесплодия кобелей. Выявленные закономерности задают четкое направление для дальнейшей работы: валидации на расширенной выборке и поиска новых значимых генетических маркеров.

ВВЕДЕНИЕ/ INTRODUCTION

SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) отличия последовательности ДНК размером в один нуклеотид (A, T, G или C) в геноме, в данном исследовании связанные с качеством эякулята у собак – точечные мутации, влияющие на экспрессию генов, связанных со сперматогенезом, подвижностью и морфологией сперматозоидов.

Практическое применение исследований в данной области может быть направлено на, маркер-опосредованный отбор кобелей с высокой фертильностью, выявление SNP, связанных с устойчивостью сперматозоидов к консервации. Так же актуализацию тест-системы для диагностики генетически зависимого бесплодия.

Актуальность в данной области поддерживается ростом спроса на вспомогательные репродуктивные технологии (ИО, ИКСИ) и необходимостью сохранения генофонда пород. За последние десятилетия GWAS анализ активно используется в ветеринарии.

В исследовании Suchocki и Szyda (2015) проведен полногеномный поиск ассоциаций (GWAS – genome-wide association studies) для пяти признаков спермопродукции у быков голштинской породы (n = 1,212). Авторы выявили значимые SNP на X-хромосоме в генах кандидатах *MAGEB10*, *FMR1* и аутосоме гена кандидата *7SK*, объясняющие до 12% генетической изменчивости. Наследуемость признаков составила 0,26–0,34, а наибольшая генетическая корреляция (r = 0,82) отмечена между объемом эякулята и числом сперматозоидов. Результаты подчеркивают ключевую роль X-хромосомы в мужской фертильности и перспективность включения этих признаков в селекционные программы [1].

Риторика исследований Modiba M.C., Nephawe K.A. (2022) подчеркивает, что более глубокая геномная оценка производителей по качеству эякулята актуальна для хозяйств где активно используется искусственное осеменение [2].

Diniz D.B., Lopes M.S. (2014) в своих исследованиях SNP связанных с подвижностью спермы хряков изучили две популяции свиней и выявили, что только в одной был обнаружен убедительный ген кандидат *MTFMT* влияющий на подвижность сперматозоидов, что еще раз подчеркивает активное влияние генетической вариативности даже внутри разных популяций одного вида [3].

Исследования GWAS жеребцов Gottschalk M, Metzger J (2016) выявили 29 SNP на 12 различных хромосомах, значительно связанных с признаками качества спермы. Для десяти геномных областей были выявлены гены-кандидаты, влияющие на фертильность жеребцов. Среди генов-кандидатов найдены гены, кодирующие богатые цистеином секреторные белки (*CRISP1*, *CRISP2*, *CRISP3*) [4].

В работе Serrano M., Ramon M. (2020) с экономической целью оптимизации сбора более качественного эякулята только у определенных баранов-производителей было проведено исследование геномной ассоциации (GWAS) с использованием спермы от 429 баранов породы Ассаф из центра по искусственному осеменению OVIGEN. Из обнаруженных 76 однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в 4 хромосомах были связаны с концентрацией эякулята, 20 SNP в 3 хромосомах были связаны с объемом эякулята и 32 SNP в 1 хромосоме с общим числом сперматозоидов. Так же была выявлена небольшая связь с качеством получаемого молока от потомства данных производителей. В этом исследовании подчеркивается устойчивая экономическая взаимосвязь с генотипированием [5].

Wang K, Kang Z (2020) выявили в гене *DSCAML1* SNP ассоциации, связанные с размером помета и качеством спермы у коз вида *Capra hircus*. Данное генетическое исследование пришло на помощь в

условиях сурового засушливого климата и высокой аборигенности в козьем поголовье [6].

Мы нашли около 180 публикаций на международном ресурсе Pabmed по теме SNP у собачьих за последние 5 лет против 1045 публикаций по данному направлению за этот же период у быков. Из них 2 на тематику, связанную с фертильной функцией собак, против 102 публикаций по этим же поисковым данным у крупного рогатого скота. Более активный геномный анализ у продуктивных видов объясним высокой экономической значимостью. Опираясь на успех в данном направлении, мы можем строить перспективные исследования у других видов домашних животных, например собак.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Эякулят от кобелей получали мануальным методом. Оценка осуществлялась на триокулярном микроскопе Ломо с применением программного обеспечения АРГУС–CASA (Computer Assisted Sperm Analysis) программа для анализа сперматозоидов. ДНК выделяли стандартным фенол-хлороформным методом с использованием протеиназы К [7] из спермы кобелей. Породы кобелей, сперма которых оценивалась в эксперименте указаны в таблице 1, возраст кобелей от 1 до 7 лет (n=31).

Перед проведением секвенирования исследуемый участок гена был амплифицирован. Последовательности праймеров, которые использовались для амплификации генов: 1. D-FSHR-9e-F cca-ttg-tgg-gta-gcc-ctc-tg, 2. D-FSHR-9e-R gta-ccg-agg-gtg-cct-cta-ct 3. D-FSHR-10e-F tct-ggg-cta-aat-ggc-gta-gag 4. D-FSHR-10e-R tgt-att-tgc-cat-tcc-gga-ccc 5. D-INHBA-2e-F: tcg-ccc-gaa-atg-agt-gag-tg 6. D-INHBA-2e-R: taa-ccg-gct-ctt-tcg-gac-tc. При подборе праймеров для амплификации исследуемого участка гена *FSHR*, *INHBA* использовалась референсная последовательность генома домашней собаки (*Canis familiaris*) из международной базы генетических данных NCBI. Подбор праймеров осуществлялся с помощью приложения Primer-BLAST интегрированного в NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/). Праймеры сконструированы ООО «Синтол» (Россия) по индивидуальному запросу.

Таблица 1 – Породы и количество кобелей, эякулят которых анализировался

Порода	Количество представителей
Французский бульдог	3
Тайский риджбек	1
Ньюфаундленд	1
Джек-рассел-терьер	2
Кавалер кинг чарльз спаниель	1
Стаффордширский терьер	1
Колли	1
Леонбергер	2
Шелти	3
Ризеншнауцер	1
Бордер-колли	2
Метис	3
Доберман	1
Американский булли	3
Австралийская пастушья собака	1
Английский кокер-спаниель	1
Сенбернар	1
Немецкая овчарка	1
Пражский крысарик	1
Немецкий дог	1

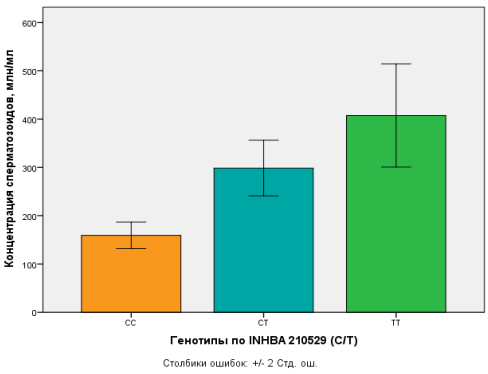
Амплификация проводилась на термоциклере С-1000 (BioRad, США) в реакционной смеси объемом 10 мкл, состоящей из 2 мкл 5х буфера для Taq (с содержанием 15Мм Mg2+), 1,2 мкл смеси dNTP (2,5 мМ), 0,2 мкл каждого из праймеров, 0,2 мкл Taq-полимеразы («Сибэнзим», Россия), а также 0,2 мкл выделенной ДНК и 6 мкл деионизированной воды. После амплификации оценивали качество полученных фрагментов с помощью электрофореза в 2% агарозном геле, а также проводили их ферментативную очистку с помощью набора реагентов Exo-SAP IT (ThermoFisher, США). Секвенирование амплифицированных фрагментов осуществляли с использованием технологии нанопорового секвенирования на приборе MinION (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). Для приготовления библиотек ДНК применяли набор «Rapid Sequencing Kit. Последовательности прочтений определяли с помощью программы MinKNOW (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). Выравнивание прочтений секвенатора на референсную последовательность осуществляли с помощью программы Minimap2 (v.2.24). Определение вариантов производилось с применением программы longshot (v. 1.0.0), минимальное покрытие для SNP составляло 500 прочтений.

Программа для статистического анализа данных IBM SPSS Statistic 19. Расчет методом ANOVA.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Нами были секвенированы 9 и 10 экзоны гена *FSHR.* И на субъединице бета А ингибина 2 экзон гена *INHBA*. Были обнаружены однонуклеотидные полиморфизмы. Данные по частоте встречаемости SNP в генах *INHBA* в локусах 10529, 10826 и *FSHR* в локусах 161722, 161917, 162102, 162295, 166566, 166783, 167443, 167550 опубликованы нами ранее в статье [8]. Мы провели анализ взаимосвязи SNP и качества спермы кобелей. Использовались, только те локусы, где было выявлено SNP.

Из таблицы 2 видно, что значимое влияние SNP на качественные показатели эякулята наблюдается в *INHBA2* локус 10529 и *FSHR9* локус 162102. Если в выборке выявлялся всего один представитель с SNP, он не оценивался. Мы проанализировали достоверность полученных данных из таблицы 2 и построили графики.



p<0,01.

Рисунок 1 – График влияния SNP в гене INHBA2 локус 10529 на концентрацию сперматозоидов в эякуляте.

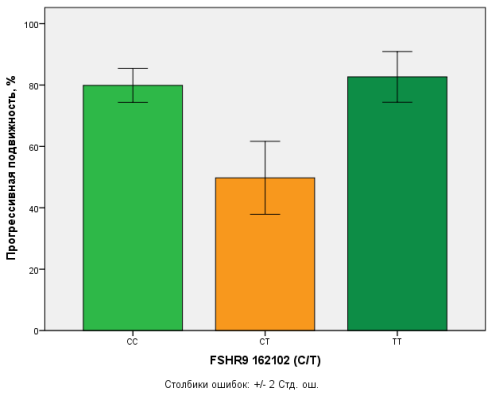
Из графика рисунка 1 видно, что SNP в локусе 10529 гена *INHBA* достоверно (p<0,01) влияет на концентрацию сперматозоидов. Так просматривается увеличение концентрации сперматозоидов от дикого генотипа СС, к гетерозиготной СТ и гомозиготной мутации ТТ с большим усилением признака на гомозиготной мутации, чем на гетерозиготной.

Из графика рисунка 2 видно, что SNP в локусе 16102 гена *FSHR9* достоверно (p<0,01) влияет на прогрессивную подвижность сперматозоидов в эякуляте при гетерозиготной мутации СТ, снижая её. При этом прогрессивная подвижность при гомозиготной мутации ТТ не имеет существенных различий от дикого генотипа СС.

График на рисунке 3 выявляет тенденцию влияния SNP в локусе 10529 в гене *INHBA* при гетерозиготной мутации СТ на увеличение процента прогрессивной подвижности сперматозоидов в эякуляте. Но, на данном этапе исследований не имеет достоверного подтверждения.

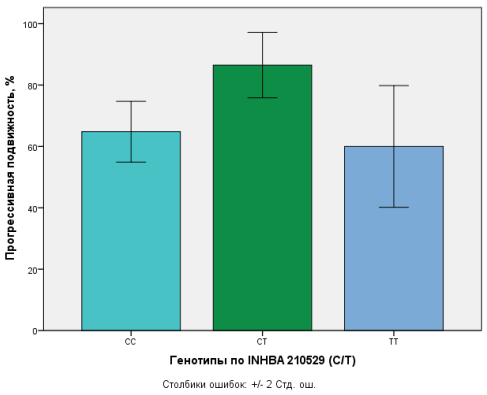
Таблица 2 – Наблюдаемое колебание средних значений качества спермы исследуемой группы кобелей (n=31) с SNP в одном локусе

Название гена	Экзон	Средний обём эякулята ,мл			Средняя концентрация, %			Средняя прогрессивная подвижность		
		Дикий тип	SNP гете-розиг.	SNP гомо-зиг.	Дикий тип	SNP гетеро-зиг.	SNP гомо-зиг.	Дикий тип	SNP гете-розиг.	SNP гомо-зиг.
IN-HBA2 (C>T)	10529	2,89±0 ,66 (n=19)	1,67±0 ,42 (n=6)	2,17± 0,98 (n=6)	159,32 ±13,70 (n=19)	**298,50± 28,89 (n=6)**	**407,5± 53,38 (n=6)**	64,79± 4,95 (n=19)	**86,50± 5,33 (n=6)**	60,0± 9,91 (n=6)
IN-HBA2 (G>A)	10826	2,53±0 ,46 (n=30)	2±0 (n=1)	Нет (n=0)	237,1± 23,4 (n=30)	150 ±0 (n=1)	Нет (n=0)	68,4±4 ,11 (n=30)	58 ±0 (n=1)	Нет (n=0)
FSHR9 (C>T)	162102	1,89±0 ,3 (n=9)	3,08±0 ,95 (n=13)	2,33± 0,7 (n=9)	197,44 ±38,73 (n=9)	220,38± 36,87 (n=13)	291,22 ±41,21 (n=9)	79,89± 2,76 (n=9)	49,77± 5,95 (n=13)	82,67 ±3,68 (n=9)
FSHR10 (C>T)	166566	2,60±2 ,52 (n=30)	0,6±0 (n=1)	Нет (n=0)	239,43 ±23,03 (n=30)	80±0 (n=1)	Нет (n=0)	68±4,1 2 (n=30)	70±0 (n=1)	Нет (n=0)
FSHR10 (G>A)	167443	2,53±0 ,46 (n=30)	2±0 (n=1)	Нет (n=0)	235,43 ±129,3 4 (n=30)	200±0 (n=1)	Нет (n=0)	67,53± 4,09 (n=30)	84,0±0 (n=1)	Нет (n=0)



p<0,01.

Рисунок 2 – График влияния SNP в гене FSHR9 локус 162102 на прогрессивную подвижность.



p<0,065.

Рисунок 3 – График влияния SNP в гене INHBA2 локус 10529 на прогрессивную подвижность.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В данной статье было исследовано влияние SNP на качественные показатели эякулята собак. Анализ полученных данных показал, что гены *INHBA2(*10529), *FSHR9(*16102), несущие мутации SNP в изученных локусах имеют статистически значимое влияние ($p<0,01$) на качество эякулята исследуемой группы. В мировой практике такие взаимосвязи с качеством эякулята у сельскохозяйственных животных активно изучаются и подтверждаются уже более 5 лет. Полученные данные о собаках обогащают область знаний генетики и селекции домашних непродуктивных животных.

Прикладное применение полученных знаний позволяет искать новые обоснования бесплодия собак в лечебном ветеринарном деле. Исследуемая группа может быть несколько скромнее в сравнении с выборками крупного рогатого скота, лошадей, свиней и других сельскохозяйственных представителей, что объясняется доступностью к изучаемой группе, а также отсутствием пищевого интереса и как следствие трудности с финансированием.

Найденные нами закономерности позволяют сосредоточиться на определенных SNP с обоснованным расширением исследуемой выборки, а также продолжать исследования по поиску новых взаимосвязей.

Таким образом, мы представили новые оригинальные данные о взаимосвязи качества спермы кобелей различных породных групп при гомозиготных и гетерозиготных вариациях SNP в генах *INHBA2(*10529), *FSHR9(*16102).

CORRELATION OF *FSHR* AND *INHBA* GENE POLYMORPHISM WITH EJACULATE QUALITY IN DOGS OF DIFFERENT BREEDS

Bogdanova S.S. – Junior Researcher, Laboratory of Developmental Biology (ORCID 0009-0007-9411-9887); **Nikitkina E.V.** – PhD of Biological Sciences, Leading Researcher, Laboratory of Developmental Biology (ORCID 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

* Sonikbogdanova@mail.ru

Funding: *The work was carried out with the financial support of the Ministry of Education and Science, project № 121052600354-7.*

ABSTRACT

Sperm quality plays a crucial role in the successful implementation of breeding programs, especially in cases where artificial insemination is practiced. Males with excellent sperm quality have good fertility and can produce larger litters, and their ejaculate is more resistant to preservation. The aim of this study is to experimentally and analytically confirm the hypothesis of the association of SNP exons of candidate genes FSHR and INHBA with the sperm quality of male dogs. Through mathematical analysis of the genomic association data (GWAS) we obtained, it was possible to identify genomic regions and individual variations associated with production traits in dogs. When selecting primers for the amplification of the 2 exons of the FSHR gene and the 9 and 10 exons of the INHBA gene, the reference sequence of the domestic dog genome (Canis familiaris) was used from the NCBI international genetic database. The primer selection was carried out using the Primer-BLAST application integrated into NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/). The primers were designed by Sintol LLC upon individual request. Amplification was performed on a C -1000 thermocycler (BioRad). Sequencing of amplified fragments was performed using nanopore sequencing technology on a MinION instrument. A Rapid Sequencing Kit was used to prepare DNA libraries. Variants were determined using the longshot program (v. 1.0.0). The results of the analysis demonstrate a statistically significant effect ($p<0.01$) of the INHBA2 and FSHR genes, which contain SNP mutations in the studied loci, on the quality of ejaculate in dogs.

These findings contribute to the little-studied field of companion animal genetics. The data obtained opens up new opportunities for diagnosing the causes of male infertility. The identified patterns set a clear direction for further work: validation on an expanded sample and the search for new significant genetic markers.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Suchocki T., Szyda J. Genome-wide association study for semen production traits in Holstein-Friesian bulls // Journal of Dairy Science. 2015. Vol. 98, No 8. P. 5774–5780. DOI: 10.3168/jds.2014-8951.
2. Modiba M.C., Nephawe K.A., Mdladla K.H., Lu W., Mtileni B. Candidate genes in bull semen production traits: An information approach review // Veterinary Sciences. 2022. Vol. 9, No 4. P. 155. DOI: 10.3390/vetsci9040155.
3. Diniz D.B., Lopes M.S., Broekhuijse M.L.W.J., Lopes P.S., Harlizius B., Guimarães S.E.F., Duijvesteijn N., Knol E.F., Silva F.F. A genome-wide association study reveals a novel candidate gene for sperm motility in pigs. Anim. Reprod. Sci. 2014;151:201–207. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2014.10.014.
4. Gottschalk M, Metzger J, Martinsson G, Sieme H, Distl O. Genome-wide association study for semen quality traits in German Warmblood stallions. Anim Reprod Sci. 2016 Aug;171:81-6. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2016.06.002. Epub 2016 Jun 8. PMID: 27334685.
5. Serrano M, Ramón M, Calvo JH, Jiménez MÁ, Freire F, Vázquez JM, Arranz JJ. Genome-wide association studies for sperm traits in Assaf sheep breed. Animal. 2021 Feb;15(2):100065. doi: 10.1016/j.animal.2020.100065. Epub 2020 Dec 27. PMID: 33573944.
6. Wang K, Kang Z, Jiang E, Yan H, Zhu H, Liu J, Qu L, Lan X, Pan C. Genetic effects of DSCAML1 identified in genome-wide association study revealing strong associations with litter size and semen quality in goat (Capra hircus). Theriogenology. 2020 Apr 1;146:20-25. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2020.01.079. Epub 2020 Feb 1. PMID: 32036056.
7. Выделение ДНК теоретические основы [Электронный ресурс]. — Режим доступа: https://vniigen.ru/wp-content/uploads/2023/07/%D0%A0%D1%8F%D0%B1%D0%BE%D0%B2%D0%B0-%D0%90.%D0%95 , свободный — (22.04.2025г)
8. Богданова С.С., Крутикова А.А., Никиткина Е.В., Рябова А.Е., Мусидрай А.А., Племяшов К.В., Волков К.С., Анипченко П.С. Полиморфизм генов FSHR и INHBA у собак различных пород. Международный вестник ветеринарии. 2025 (2) DOI: 10.52419/issn2072-24.19/2025/2
9. Chew T, Haase B, Bathgate R, Willet CE, Kaukonen MK, Mascord LJ, Lohi HT, Wade CM. A Coding Variant in the Gene Bardet-Biedl Syndrome 4 (BBS4) Is Associated with a Novel Form of Canine Progressive Retinal Atrophy. G3 (Bethesda). 2017 Jul 5;7(7):2327-2335. DOI: 10.1534/g3.117.043109. PMID: 28533336; PMCID: PMC5499139.

REFERENCES

1. Suchocki T., Szyda J. Genome-wide association study for semen production traits in Holstein-Friesian bulls // Journal of Dairy Science. 2015. Vol. 98, No 8. P. 5774–5780. DOI: 10.3168/jds.2014-8951.
2. Modiba M.C., Nephawe K.A., Mdladla K.H., Lu W., Mtileni B. Candidate genes in bull semen production traits: An information approach review // Veterinary Sciences. 2022. Vol. 9, No 4. P. 155. DOI: 10.3390/vetsci9040155.
3. Diniz D.B., Lopes M.S., Broekhuijse M.L.W.J., Lopes P.S., Harlizius B., Guimarães S.E.F., Duijvesteijn N., Knol E.F., Silva F.F. A genome-wide association study reveals a novel candidate gene for sperm motility in pigs. Anim. Reprod. Sci. 2014;151:201–207. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2014.10.014.
4. Gottschalk M, Metzger J, Martinsson G, Sieme H, Distl O. Genome-wide association study for semen quality traits in German Warmblood stallions. Anim Reprod Sci. 2016 Aug;171:81-6. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2016.06.002. Epub 2016 Jun 8.

PMID: 27334685.
5. Serrano M, Ramón M, Calvo JH, Jiménez MÁ, Freire F, Vázquez JM, Arranz JJ. Genome-wide association studies for sperm traits in Assaf sheep breed. Animal. 2021 Feb;15(2):100065. DOI: 10.1016/j.animal.2020.100065. Epub 2020 Dec 27. PMID: 33573944.
6. Wang K, Kang Z, Jiang E, Yan H, Zhu H, Liu J, Qu L, Lan X, Pan C. Genetic effects of DSCAML1 identified in genome-wide association study revealing strong associations with litter size and semen quality in goat (Capra hircus). Theriogenology. 2020 Apr 1;146:20-25. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2020.01.079. Epub 2020 Feb 1. PMID: 32036056.
7. DNA Isolation: Theoretical Foundations [Electronic resource]. — Access mode: https://vniigen.ru/wp-content/uploads/2023/07/%D0%A0%D1%8F%D0%B1%D0%BE%D0%B2%D0%B0-%D0%90.%D0%95 , free — (22.04.2025)
8. Bogdanova S.S., Krutikova A.A., Nikitkina E.V., Ryabova A.E., Musidrai A.A., Plemiyashov K.V., Volkov K.S., Anipchenko P.S. Polymorphism of FSHR and INHBA genes in dogs of various breeds. International Bulletin of Veterinary Medicine. 2025 (2) DOI: 10.52419/issn2072-24.19/2025/2
9. Chew T, Haase B, Bathgate R, Willet CE, Kaukonen MK, Mascord LJ, Lohi HT, Wade CM. A Coding Variant in the Gene Bardet-Biedl Syndrome 4 (BBS4) Is Associated with a Novel Form of Canine Progressive Retinal Atrophy. G3 (Bethesda). 2017 Jul 5;7(7):2327-2335. DOI: 10.1534/g3.117.043109. PMID: 28533336; PMCID: PMC5499139.

УДК: 619:636.2.033:577.2:636.2:001.608.1
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.508

РАЗРАБОТКА И ОПТИМИЗАЦИЯ ПЦР-МЕТОДОВ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ АНОМАЛИЙ M1 и DL У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА МЯСНЫХ ПОРОД

Мартынов Н.А. – лаборант отдела геномных исследований и селекции животных (ORCID 0000-0001-9251-0056); **Зубарева В.Д.** – мл. науч. сотр. отдела геномных исследований и селекции животных (ORCID 0000-0003-0284-0276); **Бытов М.В**. – мл. науч. сотр. отдела геномных исследований и селекции животных (ORCID 0000-0002-3622-3770); **Безбородова Н.А.** – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. отдела геномных исследований и селекции животных (ORCID 0000-0003-2793-5001); **Соколова О.В**. – д-р ветеринар. наук, вед. науч. сотр. отдела геномных исследований и селекции животных (ORCID 0000-0002-1169-4090); **Романов Е.В. *** – мл. науч. сотр. отдела ветеринарной лабораторной диагностики с испытательной лабораторией (ORCID 0009-0006-4980-0481); **Зайцева О.С.** – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. отдела геномных исследований и селекции животных (ORCID 0000-0003-0005-2161)

ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» (ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН)

**romanov.egor.2303@gmail.com*

Ключевые слова: *наследственные аномалии, генетический мониторинг, ПЦР реально времени, дилютор, гипертрофия мускулатуры, казахская белоголовая порода, абердин-ангусская порода.*

Key words*: hereditary anomalies, genetic monitoring, real-time PCR, dilutor, muscle hypertrophy, Kazakh white-headed breed, aberdeen angus breed.*

Финансирование: *Материалы подготовлены в рамках государственного задания Минобрнауки России № 0532–2025-0003 «Разработка высокоточных методов идентификации генетических детерминант устойчивости к заболеваниям для использования в селекции крупного рогатого скота».*

Поступила: 25.07.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Снижение репродуктивных показателей в мировом скотоводстве, обусловленное накоплением наследственных аномалий, требует разработки эффективных методов генетического мониторинга мутаций. Целью исследований стала разработка и оптимизация методов детекции двух наследственных аномалий крупного рогатого скота мясных пород (казахская белоголовая, абердин-ангусская порода): гипертрофии мускулатуры (M1) и дилютора (DL). В качестве биологического материала использовали цельную кровь, законсервированную в ЭДТА, от крупного рогатого скота казахской белоголовой (n = 54) и абердин-ангусской (n =35) пород. Выделение ДНК осуществляли с помощью автоматической станции для выделения нуклеиновых кислот Nexor32m (Lepu Medical Technology

Co.,Ltd., Китай), с применением набора «МагноПрайм® BET» (ООО «НекстБио», Россия). Качество, количество выделенных образцов, оценивали спектрофотометрическим методом с помощью EZdrop 1000 (Blue-Ray Biotech, Тайвань) и флуориметрическим методом с использованием Qubit 4 (ThermoFisher Scientific, США), с использованием набора QuDye HS (Lumiprobe, Россия). Для мутации M1 в гене MSTN был апробирован и оптимизирован известный ПЦР-протокол на выборке абердин-ангусской породы (n=35). Для выявления делеции в гене PMEL (DL) у казахской белоголовой породы была разработана новая ПЦР-система в режиме реального времени с оптимизацией температуры отжига праймеров. В результате скрининга носители аллеля M1 выявлены не были. При апробации разработанного теста на выборке казахской белоголовой породы (n=54) было обнаружено 3 носителя аллеля DL: 2 гетерозиготы (3,7%) и 1 гомозигота (1,85%). Полученные результаты показали эффективность разработанных методов для мониторинга генетических аномалий у крупного рогатого скота молочного направления. Внедрение этих ПЦР-тестов в селекционно-племенную работу позволит осуществлять контроль над распространением нежелательных аллелей и способствовать повышению продуктивности и экономической эффективности мясного скотоводства.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В условиях растущего спроса на животноводческую продукцию ключевой задачей является обеспечение устойчивого роста ее производства. Однако в последние десятилетия в мировом скотоводстве наблюдается стабильная тенденция к снижению репродуктивных показателей, что оказывает влияние на экономическую эффективность отрасли [1, 2, 3]. Данная проблема в равной степени затрагивает как молочное, так и мясное скотоводство и обусловлена комплексом генетических факторов, среди которых ведущая роль отводится интенсивной селекции на повышение продуктивности, часто имеющей отрицательную генетическую корреляцию с фертильностью, накоплению инбредной депрессии и распространению наследственных аномалий [1, 2].

Одной из наиболее значимых проблем в селекции являются рецессивные летальные аллели. Их наличие в гетерозиготном состоянии у фенотипически нормальных животных-носителей приводит к эмбриональной смертности или снижению жизнеспособности потомства в случае образования гомозиготного генотипа [4, 5]. Особую опасность представляет феномен, при котором летальные аллели могут закрепляться в популяции благодаря селективному преимуществу гетерозиготных носителей, например, за счет положительного плейотропного эффекта на продуктивные признаки [5, 6, 7]. Классическим примером служат мутации в гене миостатина (*MSTN*), приводящие к синдрому «двойной мускулатуры» и распространенные в ряде мясных пород [8, 9].

Современная селективная практика отвечает на эти вызовы пересмотром приоритетов в сторону сбалансированного отбора, учитывающего как продуктивные, так и репродуктивные признаки. Развитие технологий высокоплотного генотипирования и полногеномного анализа позволяет осуществлять такой комплексный отбор, включая мониторинг нежелательных генетических вариантов [3, 10]. В этом контексте все большее внимание привлекают гены, оказывающие плейотропное влияние на несколько хозяйственно полезных признаков. Ярким примером является ген PMEL, ответственный за дилютор-фенотип (ослабление пигментации). Последние исследования демонстрируют, что мутации в этом гене не только влияют на масть животных, но и могут ассоциироваться с улучшением качества мяса и показателями роста [11, 12], что указывает на его сложный плейотропный эффект.

Контроль наследственных аномалий является неотъемлемым элементом современной селекционно-племенной работы. Эта задача приобретает особую актуальность для Уральского региона, где животноводство является структурообразующей отраслью сельского хозяйства, сочетая молочное и мясо-молочное скотовод-

ство. Интенсификация производства и стратегическая задача повышения продуктивности скота напрямую зависят от сохранения и улучшения его генетического потенциала.

В связи с этим, первоочередной задачей является разработка и внедрение отечественных ПЦР тест-систем для детекции ключевых генетических аномалий. Дальнейшие перспективы – создание отечественных высокопроизводительных диагностических панелей, позволяющих проводить массовый скрининг племенного скота.

Цель исследования – оптимизировать ПЦР протокол для выявления генетически детерминированного заболевания гипертрофии мускулатуры (M1) и разработать метод идентификации носителей рецессивных аллей дилютора (DL) у крупного рогатого скота мясного направления продуктивности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объект исследования – популяции крупного рогатого скота мясного направления продуктивности. Предмет исследования - генетические маркеры дилютор (DL) и мутация миостатина (M1), ассоциированная с гипертрофией мускулатуры у животных.

В качестве биологического материала использовали цельную кровь, законсервированную в ЭДТА, от крупного рогатого скота казахской белоголовой (n = 54) и абердин-ангусской (n =35) пород. Выделение ДНК осуществляли с помощью автоматической станции для выделения нуклеиновых кислот Nexor32m (Lepu Medical Technology Co.,Ltd., Китай), с применением набора «МагноПрайм® ВЕТ» (ООО «НекстБио», Россия). Качество, количество выделенных образцов, оценивали спектрофотометрическим методом с помощью EZdrop 1000 (Blue-Ray Biotech, Тайвань) и флуориметрическим методом с использованием Qubit 4 (ThermoFisher Scientific, США), с использованием набора QuDye HS (Lumiprobe, Россия).

Амплификацию нуклеиновых кислот осуществляли с помощью CFX Opus 96 (Bio-Rad Laboratories, Inc., США). Электрофоретическое разделение продуктов реакции проводили в 3% агарозном геле в камере DYCP-32C (Beijing Liuyi Biotechnology Co.,Ltd, Китай), с визуализацией в гель-документирующих системах CHEMIDOC XRS+ и Gel Quant Express (Thermo Fisher Scientific, США).

Идентификация носителей мутаций DL и M1.

Для выявления мутации M1, характерной для крупного рогатого скота абердин-ангусской породы, были использованы последовательности праймеров (таблица №1), ранее предложенные Коноваловой Е. с соавторами [13].

Для идентификации носителей DL, ассоциированного с делецией в гене *PMEL* (p.Leu18del), был произведен подбор праймеров и гидролизных зондов, что представлено в Таблице 1. Дизайн олигонуклеотидов выполнен с помощью Primer 3web.

Определение расчётных температур плавления и отжига, а также специфичности праймеров проведено с использованием Primer BLAST. Проверку на наличие димеров праймеров производили с помощью ThermoFisher Multiple Primer Analyzer.

Реакционная смесь включала в себя: экстра-микс для ПЦР HS-Taq(2^X) (diaGene, Россия), праймеры и зонды (0,35 мкМ каждый), 2 мкл исследуемого образца ДНК и H_2Od до 25 мкл.

Для подбора оптимальных условий проводили ПЦР с градиентом температур. Условия амплификации: предварительная денатурация – 5 минут, далее 35 циклов денатурация-отжиг-элонгация 20 секунд каждый. Температуры денатурации и элонгации были 95 °С и 72 °С соответственно.

Градиент температур на этапе отжига праймеров был от 64 °С до 56 °С. Считывание уровня флуоресценции, проводилось на этапе элонгации, по каналам FAM и VIC.

Таблица 1 – Последовательности олигонуклеотидов для выявления генетических нарушений M1, DL

Генетический дефект	Название	Последовательность 5'-3'	Температура отжига, ◦C	Источник
M1	MSTN821F	TGAGGTAGGAGAGTGTTTTGGG	62,0	(13)
	MSTN821Rn	CCTCTGGGGTTTGCTTGGT		
	MSTN821Rm	ACAGCATCGAGATTCTGTCACA		
DL	Front	GGATGGATCTGGTGCTGAGA	62,0	Собственная разработка
	Reverse	ATCTTCATGTGGGGAGGGAG		
	Probe1	TCTGATGGGTGTTCTGGCTGTAG[BHQ-1]		
	Probe2	TCTGATGGGTGTTCTTCTGGCTGTA[BHQ-2]		

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Для подбора оптимальных условий проводили ПЦР с градиентом температур. Определение оптимальной температуры на данном этапе, позволяет избежать аплификации неспецифичных участков ДНК. Результаты электрофоретического разделения продуктов реакции представлены на Рисунке 1 и 2.

Как видно из электрофореграмм разделения продуктов реакции, снижение температуры на этапе отжига праймеров приводит к появлению неспецифичных продуктов реакции. Таким образом, для последующих экспериментов была установлена оптимальная и специфичная температура отжига, равная 62°C.

Для выявления носителей мутации M1, был апробирован протокол, ранее предложенный Коноваловой Е. с соавторами (13) на выборке крупного рогатого скота абердин-ангусской породы (N = 35). В результате исследования носителей рецессивных аллелей выявлено не было.

Разработанные нами олигонуклеотиды для выявления генетически детерминированного заболевания DL-дилютор у казахской белоголовой породы крупного рогатого скота методом ПЦР реального времени представлены на Рис. 3.

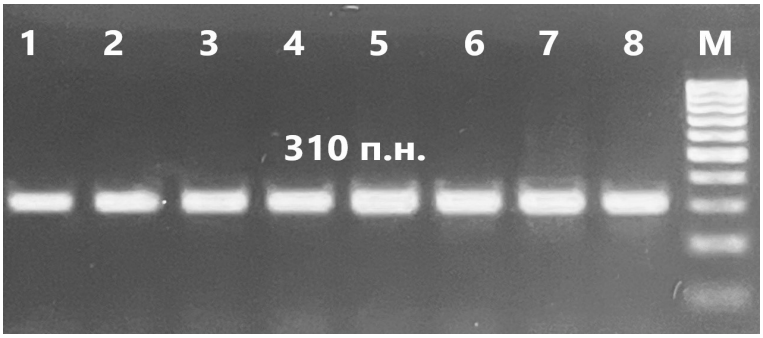


Рисунок 1 – Электрофореграмма продуктов реакции амплификации M1, где 1-8 исследуемые образцы в градиенте температур от 64 ℃ до 58 ℃, M – размерный стандарт шаг 100 п.н.

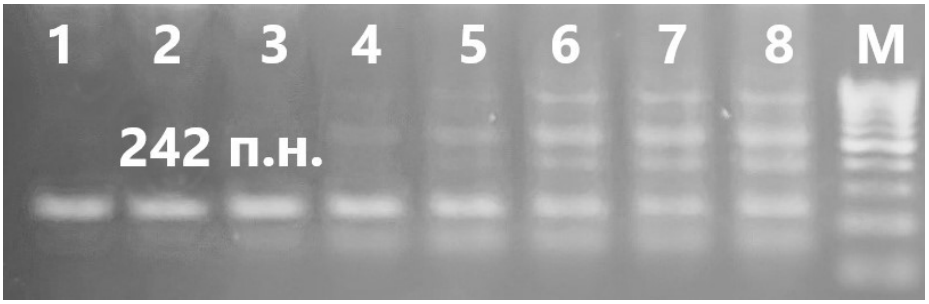


Рисунок 2 – Электрофореграмма продуктов реакции амплификации DL, где 1-8 исследуемые образцы в градиенте температур от 64 °С – 58 °С, М – размерный стандарт шаг 100 п.н.

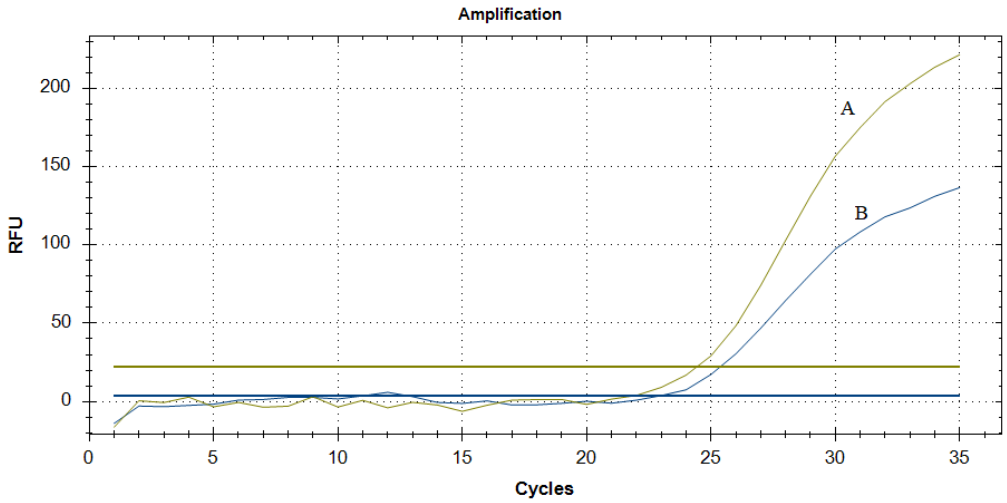


Рисунок 3 – Графики амплификации DL, где А – здоровый аллель (канал детекции VIC), В – рецессивный аллель (канал считывания FAM), RFU – уровень флуоресценции, Cycles – циклы аплификации.

На графике амплификации представлен пример амплификации здорового аллеля по каналу VIC и рецессивного аллеля по каналу FAM. Для апробации разработанных праймеров нами было исследовано 54 особи. В результате обнаружено две гетерозиготы по DL, что составляет 3,7% частоты встречаемости аллеля в нашей выборке и 1 гомозигота по мутантному аллелю – 1,85 %. Следовательно, разработанный метод является эффективным инструментом для генетического мониторинга, а его применение подтвердило наличие аллеля DL в исследованной популяции казахской белоголовой породы.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведенное исследование было сфокусировано на решении одной из ключевых проблем современной селекции мясного скота – контроле над распространением сублетальных рецессивных аллелей.

Для выявления носителей мутации M1, был апробирован протокол, ранее предложенный Коноваловой Е. с соавторами [13], в исследуемой выборке особей крупного рогатого скота абердин-ангусской породы, носителей рецессивных аллелей выявлено не было.

Результатом работы стала успешная разработка и апробация отечественного ПЦР-протокола для детекции делеции в гене PMEL (p.Leu18del), известной как дилютор (DL). Подобранные нами олигонуклеотиды и гидролизные зонды показали высокую специфичность и эффективность в режиме реального времени, что подтверждается четкой кинетикой амплификации и разделением сигналов по каналам FAM и VIC. Оптимизация температуры отжига на уровне 62°C позволила полностью исключить неспецифичную амплификацию, что является критически важным для использования метода в рутинной диагностике. Применение разработанной ПЦР тест-системы для скрининга популяции казахской белоголовой породы (n=54) позволило выявить присутствие аллеля DL с общей частотой встречаемости 3,7% для гетерозигот и 1,85% для гомозигот. Полученные частоты указывают на необходимость внедрения системного скрининга. Несмотря на то, что дилютор не является летальной аномалией, его плейотропные эффекты, ассоциированные с качеством мяса и показателями роста [11, 12], а также потенциальные проблемы с фотосенсибилизацией у животных со светлой мастью, – требуют проведения контроля за распространением данной мутации в современных селекционных программах.

В дальнейшей работе нами планируется расширение объема выборки животных для проведения скрининга по изучаемым генетическим аномалиям. Увеличение количества исследуемых животных позволит получить статистически достоверные данные о частотах встречаемости аллелей в популяциях, выявить редких носителей наследственных заболеваний в различных хозяйствах мясного направления Уральского региона.

DEVELOPMENT AND OPTIMIZATION OF PCR METHODS FOR DETECTION OF HEREDITARY ABNORMALITIES M1 AND DL IN BEEF CATTLE

Martynov N.A. – Laboratory Assistant at the Department of Genomic Research and Animal Breeding (ORCID 0000-0001-9251-0056); **Zubareva, V.D. –** Junior Researcher at the Department of Genomic Research and Animal Breeding (ORCID 0000-0003-0284-0276); **Bytov M.V.** – Junior Researcher at the Department of Genomic Research and Animal Breeding (ORCID 0000-0002-3622-3770); **Bezborodova N.A.** – Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher, Department of Genomic Research and Animal Breeding (ORCID 0000-0003-2793-5001); **Sokolova O.V.** – Doctor of Veterinary Sciences, Senior Researcher of the Department of Genomic Research and Animal Breeding (ORCID 0000-0002-1169-4090); **Romanov E.V.** * – Junior Researcher at the Veterinary Diagnostics Department with a testing laboratory (ORCID 0009-0006-4980-0481); **Zaitseva O.S.** – Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher of the Department of Genomic Research and Animal Breeding (ORCID 0000-0003-0005-2161).

Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

(FSBI URFANITS Ural Branch of the Russian Academy of Sciences)

*romanov.egor.2303@gmail.com

Financing: *The materials were prepared within the framework of the state assignment of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation No. 0532-2025-0003 "Development of high-precision methods for identifying genetic determinants of disease resistance for use in cattle breeding".*

ABSTRACT

The decline in reproductive performance in global cattle breeding, due to the accumulation of hereditary anomalies, requires the development of effective methods for genetic monitoring of mutations. The aim of the research was to develop and optimize methods for detecting two hereditary anomalies of beef cattle (Kazakh white-headed, Aberdeen Angus breed): muscle hypertrophy (M1) and dilutor (DL). For the M1 mutation in the MSTN gene, the well-known PCR

protocol was tested and optimized on a sample of the Aberdeen Angus breed (n=35). Whole blood preserved in EDTA from Kazakh Whitehead (n = 54) and Aberdeen Angus (n = 35) cattle was used as biological material. DNA extraction was performed using a Nexor32m automated nucleic acid extraction station (Lepu Medical Technology Co., Ltd., China) and the MagnoPrime® VET kit (NextBio LLC, Russia). The quality and quantity of the isolated samples were assessed spectrophotometrically using an EZdrop 1000 (Blue-Ray Biotech, Taiwan) and fluorimetrically using a Qubit 4 (ThermoFisher Scientific, USA) and the QuDye HS kit (Lumiprobe, Russia). To detect a deletion in the PMEL (DL) gene in the Kazakh white-headed breed, a new real-time PCR system was developed with optimization of the primer annealing temperature. As a result of the screening, no carriers of the M1 allele were identified. When testing the developed test on a sample of the Kazakh white-headed breed (n=54), 3 carriers of the DL allele were found: 2 heterozygotes (3.7%) and 1 homozygote (1.85%). The results showed the effectiveness of the developed methods for monitoring genetic abnormalities in dairy cattle. The introduction of these PCR tests into breeding work will allow controlling the spread of undesirable alleles and contribute to increasing the productivity and economic efficiency of beef cattle breeding.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Состояние мясного скотоводства в Российской Федерации / И. М. Дунин, Д. В. Бутусов, Г. И. Шичкин [и др.] // Ежегодник по племенной работе в мясном скотоводстве в хозяйствах Российской Федерации (2019 год). – пос. Лесные Поляны: ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела", 2020. – С. 3-16.

2. Bytov M. V. Assessing the Genetic Diversity of Five Cattle Breeds Using SNP Markers Associated with Health / M. V. Bytov, V. D. Zubareva, S. V. Volskaya [et al.] // Russian Journal of Genetics. – 2024. – Vol. 60, No. 6. – P. 747-753. – DOI 10.1134/s1022795424700182.

3. Зимина А.А., Романенкова О.С. Генетические аномалии голштинизированых симменталов. В книге: Генетика, селекция, биотехнология: интеграция науки и практики в животноводстве. Материалы международной научно-практической конференции. Пушкин, 2021. С. 58-59.

4. Cole J.B., VanRaden P.M., O'Connell J.R., Van Tassell C.P., Sonstegard T.S., Schnabel R.D., Taylor J.F., Wiggans G.R. Discovery of mutations for recessive lethal genetic defects in cattle using a haplotype-based approach // Journal of Animal Science. 2016. Vol. 94, № 1. P. 21-31. DOI: 10.2527/jas.2015-9671.

5. VanRaden P.M., Tooker M.E., O'Connell J.R., Cole J.B., Bickhart D.M. Selecting sequence variants to improve genomic predictions for dairy cattle // Genetics Selection Evolution. 2019. Vol. 51. Art. № 42. 9 p. DOI: 10.1186/s12711-019-0452-z.

6. McClure M.C., Bickhart D., Null D., VanRaden P., Xu L., Wiggans G., Liu G., Schroeder S., Glasscock J., Armstrong J., Cole J.B., Van Tassell C.P., Sonstegard T.S. Bovine exome sequence analysis and targeted SNP genotyping of recessive fertility defects BH1, HH2, and HH3 reveal a putative causative mutation in SMC2 for HH3 // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2014. Vol. 111, № 19. P. 7103-7108. DOI: 10.1073/pnas.1403754111.

7. Brenneman R.A., Sanders J.O., Davis S.K., Burns B.M. MC1R and coat defects in cattle // Journal of Animal Science. 2016. Vol. 94, No 5. P. 789-800. DOI: 10.2527/jas.2015-0123

8. Климанова Е.А., Александрова Д.А., Кочнев Н.Н. Полиморфизмы гена миостатина у животных (обзор). Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). 2024;(2):209-219. https://doi.org/10.31677/2072-6724-2024-71-2-209-219

9. Vasyukova OV, Kasyanova YV, Okorokov PL, Bezlepkina OB. [Myokines and adipomyokines: inflammatory mediators or unique molecules of targeted therapy for obesity?]. Probl Endokrinol (Mosk). 2021 Aug 10;67(4):36-45. Russian. doi: 10.14341/

probl12779
10. Jenko, J., McClure, M.C., Matthews, D. et al. Analysis of a large dataset reveals haplotypes carrying putatively recessive lethal and semi-lethal alleles with pleiotropic effects on economically important traits in beef cattle. Genet Sel Evol 51, 9 (2019). DOI: 10.1186/s12711-019-0452-z
11. Kimura, S., Hatakeyama, T., Koutaka, T., Kubo, K., Morita, S., Eguchi, K., Saitoh, K., Yamauchi, K., Imai, S., Kashimura, A., Inenaga, T., Matsumoto, H. :PMEL p.Leu18del dilutes coat color of Kumamoto sub-breed of Japanese Brown cattle. BMC Genomics 23:694, 2022. Pubmed reference: 36207673. DOI: 10.1186/s12864-022-08916-8
12. Wei, J., Brophy, B., Cole, S.A., Leath, S., Oback, B., Boch, J., Wells, D.N., Laible, G. :Production of light-coloured, low heat-absorbing Holstein Friesian cattle by precise embryo-mediated genome editing. Reprod Fertil Dev 36:112-123, 2023. Pubmed reference: 38064192. DOI: 10.1071/RD23163.
13. Konovalova E. et al. The molecular bases study of the inherited diseases for the health maintenance of the beef cattle //Genes. – 2021. – T. 12. – №. 5. – C. 678. doi.org/10.3390/genes12050678

REFERENCES

1. The state of beef cattle breeding in the Russian Federation / I. M. Dunin, D. V. Butusov, G. I. Shichkin [et al.] // Yearbook on breeding work in beef cattle breeding in farms of the Russian Federation (2019). – village Lesnye Polyany: All-Russian Scientific Research Institute of Breeding, 2020, pp. 3-16 (In Russ.)
2. Bytovsky M. V. Assessment of the genetic diversity of five cattle breeds using SNP markers associated with health / M. V. Bytovsky, V. D. Zubareva, S. V. Volskaya [et al.] // Russian Journal of Genetics. – 2024. – Volume 60, No. 6. – pp. 747-753. – DOI 10.1134/s1022795424700182 (In Russ.)
3. Zimina A.A., Romanenkova O.S. Genetic anomalies of Holstein simmentals. In the book: Genetics, breeding, biotechnology: the integration of science and practice in animal husbandry. Materials of the international scientific and practical conference. Pushkin, 2021. pp. 58-59 (In Russ.)
4. Cole J.B., Vanraden P.M., O'Connell J.R., Van Tassell K.P., Sonstegaard T.S., Schnabel R.D., Taylor J.F., Wiggans G.R. Detection of mutations causing recessive lethal genetic defects in cattle using an approach based on Haplotypes // Journal of Animal Science. 2016. Vol. 94, No. 1. pp. 21-31. DOI: 10.2527/jas.2015-9671.
5. Vanraden P.M., Tooker M.E., O'Connell J.R., Cole J.B., Bickhart D.M. Sequence selection for improving genomic predictions of dairy cattle // The evolution of genetic breeding. 2019. Volume 51. Article No. 42. 9 p. DOI: 10.1186/s12711-019-0452- h.
6. McClure M.S., Bickhart D., Null D., Vanraden P., Xu L., Wiggans G., Liu G., Schroeder S., Glascock J., Armstrong J., Cole J.B., Van Tassell K.P., Sonstegard T.S. Cattle exome sequence analysis and targeted SNP genotyping recessive fertility defects BH1, HH2., and HH3 reveal a suspected causal mutation in SMC2 for HH3 // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2014. Volume 111, No. 19. pp. 7103-7108. DOI: 10.1073/pnas.1403754111.
7. Brenneman R.A., Sanders J.O., Davis S.K., Burns B.M. MC1R and wool defects in cattle // Journal of Animal Science. 2016. Volume 94, No. 5. pp. 789-800. DOI: 10.2527/jas.2015-0123
8. Klimanova E.A., Alexandrova D.A., Kochnev N.N. Polymorphisms of the myostatin gene in animals (review). Bulletin of NAGAU (Novosibirsk State Agrarian University). 2024;(2):209-219. https://doi.org/10.31677/2072-6724-2024-71-2-209-219 (In Russ.)
9. Vasyukova O.V., Kasyanova Yu.V., Okorokov P.L., Bezlepkina O.B. Myokines and adipomyokines: inflammatory mediators or unique molecules of targeted therapy for obesity?. The Endocrinol problem (Moscow). August 10, 2021;67(4):36-45. Russian. doi: 10.14341/issue 12779
10. Jenko J., McClure M.S., Mathews D. et al. Analysis of a large data set revealed haplotypes carrying presumably recessive lethal and semi-lethal alleles that have a pleiotropic

effect on economically important traits of beef cattle. The genetic code of evolution 51, 9 (2019). DOI: 10.1186/s12711-019-0452-z
11. Kimura, S., Hatakeyama, T., Kutaka, T., Kubo, K., Morita, S., Eguchi, K., Saito, K., Yamauchi, K., Imai, S., Kashimura, A., Inenaga, T., Matsumoto, H. :PMEL p.Leu18del dilutes the coat color of the Kumamoto subcontinent.- a breed of Japanese brown cattle. BMC Genomics 23:694, 2022. Link to the publication: 36207673. DOI: 10.1186/s12864-022-08916-8
12. Wei, J., Brophy, B., Cole, S.A., Lit, S., Obak, B., Boh, J., Wells, D.N., Lyble, G. Obtaining light-colored Holstein-Frisian cattle with low heat absorption by precise editing of the genome mediated by embryos. Updated in version 36:112-123, 2023. Link to the publication: 38064192. DOI: 10.1071/RD23163.
13. Konovalova E. I. et al. The study of the molecular basis of hereditary diseases for maintaining the health of beef cattle //Genes. – 2021. – vol. 12. – No. 5. – p. 678. doi.org/10.3390/genes12050678 (In Russ.)

УДК: 636.082.2:636.034
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.517

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА IGF-1 НА МОЛОЧНУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ И РЕПРОДУКТИВНЫЕ КАЧЕСТВА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ГОЛШТИНСКОЙ ПОРОДЫ В УСЛОВИЯХ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

Муханина Е.Н.* – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-9299-2104); **Шакиров Ш.К.** – д-р с.-х. наук, проф., гл. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-3362-0463); **Вологин Д.С.** – асп., мл. науч.сотр. (ORCID 0009-0009-7473-7893)

Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства
ФИЦ КазНЦ РАН

*natysafina@gmail.com

Ключевые слова: *ген, аллель, полиморфизм, IGF-1, инсулиноподобный фактор роста-1, скот, удой, мясная продуктивность, воспроизводство.*

Key words: *gene, allele, polymorphism, IGF-1, insulin-like growth factor 1, cattle, yield, meat productivity, reproductive ability.*

Финансирование: *Статья выполнена в рамках государственного задания: «совершенствование комплексных отечественных технологий селекции, растениеводства и животноводства на основе идентификации высокоценных генотипов, молекулярно-генетических методов, биотехнологий, конструирования адаптивных и высокопродуктивных агробиоценозов и агроэкосистем для производства экологической и функциональной продукции».*

Поступила: 14.07.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты комплексного исследования влияния полиморфизма гена инсулиноподобного фактора роста 1 (*IGF-1*) на ключевые хозяйственно-полезные признаки у голштинского скота отечественной селекции в условиях Республики Татарстан. Было идентифицировано три генотипа по изучаемому локусу: АА, АВ и ВВ. Популяция характеризовалась умеренным генетическим разнообразием с частотой аллеля А 0,524 и аллеля В 0,476, а распределение генотипов незначительно отклонялось от равновесия Харди-Вайнберга. Установлено, что гетерозиготный генотип А, ассоциирован с наиболее высокими общими показателями молочной продуктивности. Особи с этим генотипом демонстрировали наивысший удой как за полную лактацию (7399,0 кг), так и за стандартную лактацию (7232,0 кг), что свидетельствует об эффекте гетерозиса. Помимо этого, коровы-гетерозиготы имели наибольшую массовую долю жира в молоке (3,58%) и максимальный выход молочного жира. В то же время, животные с гомозиготным генотипом ВВ показали выраженные преимущества в репродуктивных качествах. У

них был зафиксирован более высокий коэффициент воспроизводительной способности (0,98) и наименьший процент яловости (11,5%), что указывает на лучшую фертильность и эффективность воспроизводства стада. Важно отметить, что коровы с генотипом ВВ также характеризовались оптимальными санитарно-гигиеническими свойствами молока, что подтверждается достоверно более низким содержанием соматических клеток (277,8 тыс./см³) по сравнению с другими группами. Этот факт свидетельствует о потенциально большей устойчивости к маститам и более высоком качестве молочной продукции. Особи с гомозиготным генотипом АА гена *IGF-1* уступали по большинству изучаемых показателей, демонстрируя наименьшую продолжительность лактации и удой за полную лактацию. Таким образом, гетерозиготный генотип АВ предпочтителен для максимизации надоев и жирномолочности, в то время как генотип ВВ целесообразно использовать для улучшения воспроизводства, здоровья вымени и качества молока.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1) рассматривается как перспективный маркер-кандидат для селекции крупного рогатого скота. Он является основным регулятором постнатального роста, метаболизма и динамики роста и развития крупного рогатого скота и необходим для инициации митогенного размножения и дифференцировки миобластов в скелетных мышцах [2, 6].

Физиологически IGF-1 стимулирует клеточную пролиферацию и дифференцировку в тканях, в том числе в молочной железе, что улучшает рост и развитие ацинарных клеток, ответственных за синтез молочного секрета, к тому же он регулирует экспрессию множества генов, влияющих на синтез белков, ферментов и рецепторов, необходимых для эффективной лактации. При высоком уровне IGF-1 наблюдается увеличение удоя, содержания жира и белка в молоке, так как стимулируются процессы продуцирования молочных компонентов и рост клеток железы [1, 9].

Кроме молочной продуктивности, IGF-1 участвует в регуляции репродуктивных функций и является маркером воспроизводительной способности у коров. Он оказывает влияние на созревание и овуляцию яйцеклеток, а также на развитие фолликулов в яичниках, участвует в регуляции гормонов, влияющих на репродуктивный цикл (лютеинезирующий и фоликуллостимулирующий гормоны). Повышенный уровень IGF-1 ассоциируется с улучшенной функцией желтого тела, способствуя поддержанию беременности и сокращению интервала между отелами [3, 8].

Ген *IGF-1* крупного рогатого локализован на хромосоме 5, его полная длина составляет примерно 5 kb. Ген *IGF-1* включает в себя несколько экзонов, разделенных интронами, а также регуляторные участки в 5'-промоторной и 3'-нетранслируемой области, в которых расположены полиморфизмы, влияющие на экспрессию гена и связанные с продуктивными признаками [7, 9].

Однонуклеотидный полиморфизм (SNP – IGF897R) в гене *IGF-1* крупного рогатого скота представляет собой замену тимина на цитозин (T>C) в позиции 512 п.о., расположенную в 5'-нетранслируемой области перед первым кодоном первого экзона. Эта точечная мутация не затрагивает кодирующую часть белка напрямую, но может влиять на регуляцию экспрессии гена, так как область 5'-конца участвует в контроле транскрипции и стабилизации мРНК. Изменения в этом участке могут повлиять на количество экспрессируемого белка IGF-1, что отражается на физиологических процессах роста, развития и хозяйственно-полезных характеристиках животных. Этот полиморфизм служит важным генетическим маркером в селекционных программах по улучшению экономически значимых качеств крупного рогатого скот [4, 5].

В совокупности, позиция гена *IGF-1* на 5-ой хромосоме и его структурно-функциональные особенности делают его важным объектом для изучения и селекционной работы, направленной на увели-

чение удоя и повышения качественных показателей молока, а также воспроизводительных качеств крупного рогатого скота.

Цель исследования – изучить ассоциацию полиморфизма гена *IGF-1* с молочной продуктивностью и репродуктивными качествами у дойных коров в условиях Республики Татарстан.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объектом исследования стали 288 дойных коров голштинской породы, содержащихся в СХПК «Племенной завод им. Ленина» (Атнинский район, Республика Татарстан). Геномную ДНК выделяли из крови, взятой из хвостовой вены, с применением набора «AmpliSens» ДНК-Сорб-В (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия), по методике, предложенной производителем.

ДНК-образцы амплифицировали на программируемых термоциклерах «MyCycler» и «T100 Thermal Cycler» (BIO RAD, США) в оптимальных температурно-временных режимах по адаптированному протоколу ПЦР-ПДРФ анализа с применением ранее спроектированных праймеров:

IGF-1 F: 5′ – CCTCTGCGGGGCTGAGTTGGT –3′,

IGF-1 R: 5′– CGACTTGGCGGGCTTGAGAGGC – 3′ [4].

Нужно отметить следующее: однонуклеотидный полиморфизм IGF897R в гене IGF-1 крупного рогатого скота представляет собой замену тимина на цитозин и в исследовании использована система обозначений исходной публикации, где аллель Т маркирован как А, аллель С – как В [5].

Визуализацию фрагментов осуществляли посредством системы визуализации «GelDoc Go» с программным обеспечением «Image Lab Touch» V. 3.0 (BIO RAD, США).

Данные о молочной продуктивности и живой массе, регистрируемой в ходе контрольных взвешиваний, исследуемой популяции крупного рогатого скота были получены из официальной электронной базы «СЭЛЭКС. Молочный скот» (АРМ Плинор, Россия). Качественный состав молока анализировался в лаборатории ГПП «Элита».

В ходе генетического анализа были рассчитаны частоты аллелей и генотипов. Соответствие распределения генотипов гена *IGF-1* закону Харди-Вайнберга оценивали с помощью критерия хи-квадрат (χ^2), сравнивая наблюдаемые частоты с теоретически ожидаемыми.

Выход живых телят (ВТ) на 100 коров в год определяли по формуле:

$$ВТ = \frac{365 - СП}{285 * 100},$$

где СП – продолжительность сервис-периода, дней;

285 – средняя продолжительность стельности, дней.

Коэффициент воспроизводительной способности (КВС) рассчитали по формуле:

$$КВС = \frac{365}{МОП},$$

где МОП – средний межотельный период, дней.

Для расчета индекса плодовитости коров (индекс Дохи) использовали формулу:

Т = 100 – (К + 2*МОП),

где К – возраст коровы при первом отеле, мес.;

МОП – средний межотельный период, мес.

Статистическую значимость различий оценивали с использованием *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В изучаемой популяции голштинских коров молочного направления продуктивности выявлено генетическое разнообразие по гену *IGF-1*, она представлена двумя аллелями – А (0,524) и В (0,476) и тремя генотипами – АА (24,7 %), АВ (55,6%) и ВВ (19,8 %). Данное поголовье характеризуется умеренным полиморфизмом (*PIC* = 0,50), небольшим избытком гетерозигот (*fis* = - 11,4 %) и незначительным отклонением от равновесия Харди-Вайнберга (χ^2 = 3,73) при критическом его значении 5,99.

В таблице 1 продемонстрировано влияние различных генотипов гена *IGF-1* на основные показатели молочной продуктивности коров. Так, особи с генотипом АА характеризовались наименьшей длительностью лактации и удоем за полную лактацию. Животные с генотипами АВ и ВВ, напротив, отличались достоверно более продолжительными дойными периодами и значительно более высокими показателями удоя за полную лактацию.

Таблица 1 – Показатели молочной продуктивности коров в разрезе гена *IGF-1*

Генотип	Дойные дни, дн.	Удой за полную лактацию, кг	Удой за 305 дней лактации, кг
АА (n=71)	286,8±17,6	6792,6±175,5	7175,9±160,6
АВ (n=160)	311,7±10,2	7399,0±135,5*	7232,0±95,6
ВВ (n=57)	310,1±23,2	7419,6±265,3*	6935,2±209,8

*Примечание: *- p<0,05, ** - p<0,01, *** - p<0,001 в сравнении большего показателя с меньшим*

Таблица 2 – Качественные молочные показатели коров в разрезе гена *IGF-1*

Генотип	Массовая доля жира, %	Массовая доля белка, %	Выход молочного жира, кг	Выход молочного белка, кг	Соматические клетки, тыс./ см^3
АА (n=71)	3,56±0,04	3,44±0,04	262,3±5,8	254,3±7,6	377,4±54,0*
АВ (n=160)	3,58±0,25	3,38±0,03	265,2±3,8	251,5±4,6	396,4±33,0
ВВ (n=57)	3,46±0,05	3,46±0,04	248,1±7,9	252,9±10,5	277,8±46,7

*Примечание: *- p<0,05, ** - p<0,01, *** - p<0,001 в сравнении большего показателя с меньшим*

Однако гетерозиготные животные имели наивысший удой за 305 дней лактации. При этом группа с гомозиготным генотипом ВВ, несмотря на лидерство по удою полную лактацию, показала наименьший результат за стандартный период. Это указывает на то, что высокий удой у ВВ-особей был достигнут преимущественно за счет большей длины лактации, а не интенсивности молокоотдачи. Таким образом, коровы гетерозиготного типа гена *IGF-1* проявляют эффект гетерозиса, демонстрируя наиболее сбалансированную и высокую продуктивность по важнейшему для селекции показателю – удою за 305 дней лактации.

Анализ качественных показателей молока в зависимости от генотипа гена *IGF-1* выявил существенные различия между группами исследуемых животных (табл. 2). Гетерозиготные особи обладали наилучшими результатами по показателям жирномолочности: у них зафиксирована наибольшая массовая доля жира в молоке и максимальный выход молочного жира, что превышает показатели других групп, имея при это характер тенденции. При этом по белковомолочности преимущество оказалось у особей с гомозиготными генотипами: наибольшая массовая доля белка отмечена у генотипа ВВ, а максимальный выход молочного белка – у АА-животных.

При этом по белковомолочности преимущество оказалось у особей с гомозиготными генотипами: наибольшая массовая доля белка отмечена у генотипа ВВ, а максимальный выход молочного белка –

у АА-животных.

У коров с генотипом ВВ зарегистрировано достоверно наименьшее количество соматических клеток – 277,8 тыс./см^3, что значительно ниже, чем у АА особей. Это свидетельствует о потенциально лучшей устойчивости этих животных к воспалительным процессам вымени, таким как мастит, и, соответственно, оптимальных санитарно-гигиенических показателях получаемого молока и молочной продукции.

В таблице 3 отражены репродуктивные качества коров в зависимости от генотипа гена *IGF-1,* рассматриваемые по общепринятым показателям. Наибольшие значения выхода телят на 100 голов коров и коэффициента воспроизводительной способности установлены у животных с генотипом ВВ, что в сочетании со статистически достоверным наименьшим процентом яловости (11,5 %) свидетельствует о преимуществе данного генотипа в селекционной работе по улучшению фертильности стада. Но стоит отметить, что это утверждение несет характер тенденции, и требует исследования на большем поголовье молочного скота.

Таблица 3 – Репродуктивные качества коров в разрезе полиморфизма гена *IGF-1*

Показатель	Генотип		
	АА (n=71)	АВ (n=160)	ВВ (n=57)
Возраст 1 плодотворного осеменения, мес.	18,1±0,3	18,4±0,3	18,9±0,5
Живая масса при 1 плодотворном осеменении, кг	424,2±4,3	423,0±3,0	413,2±5,28
Живая масса при 1 отеле, кг	519,2±7,5	531,7±4,2	520,6±8,7
Индекс плодовитости Дохи	45,9±0,9	45,4±0,6	46,8±1,2
Выход телят (ВТ)	82,0±4,7	80,2±2,6	87,3±5,8
Коэффициент воспроизводительной способности (КВС)	0,93±0,03	0,91±0,02	0,98±0,04*
Яловость, %	17,9±2,1	14,2±2,3	11,5±2,4*

*Примечание: *- p<0,05, ** - p<0,01, *** - p<0,001 в сравнении большего показателя с меньшим*

Особи с генотипом АА показали более ранее достижение возраста плодотворного осеменения (18,1 мес.) и большую живую массу при первом плодотворном осеменении (424 кг). Однако коровы с генотипом ВВ продемонстрировал более высокий индекс плодовитости Дохи, что подтверждает его превосходство в репродуктивном плане.

Животные, несущие гетерозиготный генотип АВ заняли промежуточное положение по большинству показателей, но показали наибольшую живую массу при первом отеле (531,7 кг).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Полиморфизм гена *IGF-1* существенно влияет на молочную продуктивность и репродуктивные качества коров голштинской породы. Особи с генотипом АВ и ВВ показывают более продолжительный период лактации и более высокий удой за полную лактацию. АВ-животные также выделяются высоким показателем массовой доли жира в молоке, а ВВ-коровы –

наибольшей белковомолочностью и низким уровнем соматических клеток. В репродуктивном отношении животные, гомозиготные по аллелю В характеризуются лучшими показателями плодовитости и наименьшим уровнем яловости.

INFLUENCE OF IGF-1 GENE POLYMORPHISM ON MILK PRODUCTIVITY AND REPRODUCTIVE TRAITS OF HOLSTEIN CATTLE IN THE REPUBLIC OF TATARSTAN

Mukhanina E.N. * – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher (ORCID 0000-0001-9299-2104); **Shakirov Sh.K.** – Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Chief Researcher (ORCID 0000-0002-3362-0463); **Vologin D.S.** – Graduate student, Junior Researcher (ORCID 0009-0009-7473-7893).

Tatar Scientific Research Institute of Agriculture, FRC Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences

*natysafina@gmail.com

Financing: *The article was carried out within the framework of the state task: «Improving complex domestic technologies of selection, crop production and livestock production on the basis of identification of high-value genotypes, molecular genetic methods, biotechnologies, design of adaptive and highly productive agrobiocenoses and agroecosystems for the production of ecological and functional products».*

ABSTRACT

The article presents the results of a comprehensive study on the effect of polymorphism in the insulin-like growth factor 1 (*IGF-1*) gene on key economically valuable traits in Holstein cattle of domestic selection in the conditions of the Republic of Tatarstan. Three genotypes were identified at the studied locus: AA, AB, and BB. The population was characterized by moderate genetic diversity with an allele A frequency of 0.524 and allele B frequency of 0.476, with the genotype distribution showing a slight deviation from Hardy-Weinberg equilibrium. It was found that the heterozygous AB genotype is associated with the highest overall milk productivity indicators. Individuals with this genotype demonstrated the highest milk yield both for complete lactation (7399.0 kg) and standard lactation (7232.0 kg), indicating a heterosis effect. In addition, heterozygous cows had the highest percentage of milk fat (3.58%) and maximum total milk fat yield. At the same time, animals with the homozygous BB genotype showed pronounced advantages in reproductive traits. They showed a higher reproductive ability index (0.98) and the lowest barren rate (11.5%), which indicates better fertility and reproductive efficiency of the herd. It is important to note that cows with the BB genotype also exhibited optimal sanitary and hygienic properties of milk, as confirmed by a significantly lower somatic cell count (277.8 thou./cm³) compared to other groups. This fact indicates potentially greater resistance to mastitis and higher milk product quality. Individuals with the homozygous AA genotype of the *IGF-1* gene lagged behind in most studied parameters, displaying the shortest lactation duration and total lactation yield. Thus, the heterozygous AB genotype is preferable for maximizing milk yield and milk fat content, while the BB genotype is advisable to use to improve reproduction, udder health, and milk quality.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Гилемханов, И.Ю. Молочная продуктивность первотёлок татарстанского типа с разными генотипами по локусам генов соматотропинового каскада: диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук: 06.02.07 / Гилемханов Ильназ Юнусович ; ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана». – Казань, 2021. – 128 с.

2. Муханина, Е. Н. Ассоциация полиморфизма гена FGF2 с экономически значимыми признаками коров голштинской породы республики Татарстан / Е. Н. Муханина, Н. Ю. Сафина, Ш. К. Шакиров [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 1. – С. 342-349. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.1.342.

3. Муханина, Е. Н. Обусловленность продуктивных качеств крупного рогатого скота Республики Татарстан полиморфизмом гена остеопонтина / Е. Н. Муханина, Н. Ю. Сафина, З. Ф. Фаттахова [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2024. – Т. 260, № 4. – С. 148-153. – DOI 10.31588/2413_4201_1883_4_260_148.
4. Сафина, Н. Ю. Полиморфизм гена IGF -1 в поголовье коров голштинской породы и быков-производителей / Н. Ю. Сафина, Е. Н. Муханина, Ш. К. Шакиров [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2025. – № 1. – С. 343-353. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2025.1.343.
5. Ge, W. Association of a genetic marker with blood serum insulin-like growth factor-I concentration and growth traits in Angus cattle / W. Ge, M.E. Davis, H. C. Hines [et al.] // Journal of Animal Science. – 2001. – V. 79. – №. 7. – P. 1757-1762.
6. Hendam, B. M. Gene Expression of Immune, Growth and Lipogenic Markers in Holstein, Simmental and Brown Swiss Calves / B. M. Hendam, H. M. Ghanem, B. H. Marghani [et al.] //Alexandria Journal of Veterinary Sciences. – 2023. – V. 76. – №. 1. – P. 84-95.
7. Lucy M. C. Functional differences in the growth hormone and insulin-like growth factor axis in cattle and pigs: implications for post-partum nutrition and reproduction // Reproduction in Domestic Animals. – 2008. – V. 43. – P. 31-39.
8. Meyer, Z. Analysis of the IGF-system in milk from farm animals–Occurrence, regulation, and biomarker potential / Z. Meyer, C. Höflich, E. Wirthgen [et al.] // Growth Hormone & IGF Research. – 2017. – V. 35. – P. 1-7.
9. Mullen, M. P. Single nucleotide polymorphisms in the insulin-like growth factor 1 (IGF-1) gene are associated with performance in Holstein-Friesian dairy cattle / M. P. Mullen, D. P. Berry, D. J. Howard [et al.] // Frontiers in genetics. – 2011. – V. 2. – P. 3.
10. Oksbjerg, N. Basic principles of muscle development and growth in meat-producing mammals as affected by the insulin-like growth factor (IGF) system / N. Oksbjerg, F. Gondret, M. Vestergaard // Domestic Animal Endocrinology. – 2004. – V. 27. – №. 3. – P. 219-240.
11. Parmentier, I. Candidate gene markers associated with somatotropic axis and milk selection/ I. Parmentier, D. Portetelle, N. Gengler [et al.] // Domestic Animal Endocrinology. – 1999. – V. 17. – №. 2-3. – P. 139-148.

REFERENCES

1. Gilemkhanov, I.Yu. Milk productivity of first-calf heifers of the Tatarstan type with different genotypes at the loci of growth hormone cascade genes. Dissertation for the degree of Candidate of Biological Sciences: 06.02.07. Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman, Kazan, 2021, 128 p.
2. Mukhanina E. N., Safina N. Yu., Shakirov Sh. K., Gaynutdinova E. R., Fattakhova Z. F. Association of FGF2 gene polymorphism with economically significant traits of Holstein cows of the Republic of Tatarstan // International Bulletin of Veterinary Medicine. 2024. 1:342-349.
3. Mukhanina E. N., Safina N. Yu., Fattakhova Z. F., Gaynutdinova E. R., Shakirov Sh. K., Ravilov R. H. The conditioning of productive qualities of cattle of the Republic of Tatarstan by polymorphism of the osteopontin gene // Scientific Notes of the Kazan Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. 2024. 4:148-153.
4. Safina N.Yu., Mukhanina E. N., Shakirov Sh. K., Gaynutdinova E. R., Vologin D. S. Polymorphism of the IGF -1 gene in the livestock of Holstein cows and breeding bulls // International Bulletin of Veterinary Medicine. 2025. 1:343-353.
5. Ge W., Davis M. E., Hines H. C., Irvin K. M., Simmen R. C. Association of a genetic marker with blood serum insulin-like growth factor-I concentration and growth traits in Angus cattle //Journal of Animal Science. 2001.79(7):1757-1762.
6. Hendam B. M., Ghanem H. M., Marghani B. H., U. A. Abou-ismail, A. I. Ateya. Gene Expression of Immune, Growth and

Lipogenic Markers in Holstein, Simmental and Brown Swiss Calves // Alexandria Journal of Veterinary Sciences. 2023. 76(1):84-95.
7. Lucy M. C. Functional differences in the growth hormone and insulin-like growth factor axis in cattle and pigs: implications for post-partum nutrition and reproduction // Reproduction in Domestic Animals. 2008. 43:31-39.
8. Meyer Z., Höflich C., Wirthgen E., Olm S., Hammon H. M., Hoeflich A. Analysis of the IGF-system in milk from farm animals–Occurrence, regulation, and biomarker potential // Growth Hormone & IGF Research. 2017. 35:1-7.
9. Mullen M. P., Berry D. P., Howard D. J., Diskin M. G., Lynch C. O., Giblin L., Kenny D. A., Magee D. A., Meade K. G., Waters S. M. Single nucleotide polymorphisms in the insulin-like growth factor 1 (IGF-1) gene are associated with performance in Holstein-Friesian dairy cattle // Frontiers in genetics. 2011. 2:3.
10. Oksbjerg N., Gondret F., Vestergaard M. Basic principles of muscle development and growth in meat-producing mammals as affected by the insulin-like growth factor (IGF) system // Domestic Animal Endocrinology. 2004. 27(3):219-240.
11. Parmentier I., Portetelle D., Gengler N., Prandi A., Bertozzi C., Vleurick L., Gilson R., Renaville R. Candidate gene markers associated with somatotropic axis and milk selection // Domestic Animal Endocrinology. 1999. 17(2-3):139-148.

УДК: 636.5.
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.525

КАЛЬЦИЕВЫЙ ГОМЕОСТАЗ В НАТИВНЫХ И ДЕКРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ СПЕРМАТОЗОИДАХ *GALLUS GALLUS D.*

Кузьмина Т.И. – д-р биол. наук, проф., глав. науч. сотрудник, зав. лабораторией биологии развития, (ORCID 0000-0002-4218-6080); **Курочкин А.А.* –** науч. сотр. лаборатории биологии развития **(**ORCID 0000-0003-4430-4770); **Плешанов Н.В. –** биолог лаборатории биологии развития (ORCID 0000-0002-4634-7515); **Притужалова А.О. –** науч. сотр. лаборатории биологии развития (ORCID 0000-0002-2865-9582)

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».

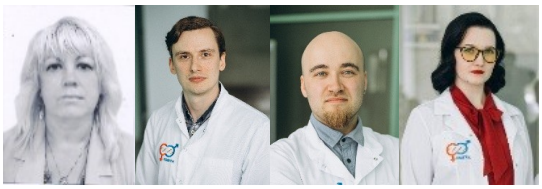
**kurochkin.anton.66@gmail.com*

Ключевые слова: *криоконсервация, сперма петухов, индивидуальный эякулят, внутриклеточные ионы кальция, жизнеспособность, заморожено/оттаянное семя, биомаркеры.*

Key words: *cryopreservation, rooster sperm, individual ejaculate, intracellular calcium ions, viability, frozen/thawed semen, biomarkers.*

Финансирование*: работа выполнена при финансовой поддержке РНФ номер проекта 25-16-00131.*

Поступила: 16.08.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025



РЕФЕРАТ

Современное птицеводство активно использует вспомогательные репродуктивные технологии, в частности криоконсервацию спермы, эффективность которой зависит от сохранения жизнеспособности клеток и их функциональной активности. С целью раннего выявления производителей с высокими показателями заморожено/оттаянного семени петухов ведется поиск высокоинформативных биомаркеров, детерминирующих качество спермы. Митохондрии, являющиеся источником АТФ, играют ключевую роль в подвижности сперматозоидов и их активности, в том числе посредством трансдукции ионов кальция (Ca^{2+}). Цель исследования – идентификация эффектов сверхнизких температур на подвижность заморожено/оттаянных мужских гамет *Gallus Gallus d*., митохондриальную активность и содержание в них цитозольного Ca^{2+}. Объектом исследования служили образцы свежеполученных эякулятов и заморожено/оттаянного семени (♂n = 10) породы царскосельская (селекция ВНИИГРЖ) в возрасте 61–63 недель. Сперму получали методом абдоминального массажа в пенициллиновые

флаконы дважды в неделю, в течение двух недель. В ходе исследования выявлена высокая индивидуальная изменчивость в объемах нативных эякулятов особей и концентрации сперматозоидов. Высокое содержание внутриклеточного Ca^{2+} было значительно выше в сперматозоидах с интактной плазматической мембраной (56,48 ± 3,37%) по сравнению с клетками с повреждённой плазматической мембраной (3,51 ± 0,81%). После цикла замораживания/оттаивания популяция клеток с интактной плазматической мембраной и высоким содержанием внутриклеточного Ca^{2+} существенно снизилась и составила 9,97±0,74%. Таким образом, направленность изменения содержания внутриклеточного кальция (снижение) в размороженных сперматозоидах, в сочетании с другими представленными в настоящем исследовании индикаторами жизнеспособности и функциональной активности мужских гамет (митохондриальная активность), может рассматриваться в качестве одного из кандидатов превентивных биомаркеров криорезистентности.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Сохранение генетических ресурсов домашней птицы во многом основывается на возможности сохранения жизнеспособности и функциональной активности мужских гамет в условиях сверхнизких температур. Механизмы, детерминирующие криорезистентность сперматозоидов *Gallus gallus d*., несмотря на значительные достижения в этой области, окончательно не выяснены, а технология криоконсервации мужских гамет требует дальнейшего совершенствования. Эффективность глубокого замораживания сперматозоидов (криоконсервация в условиях сверхнизких температур) зависит от многих факторов, обеспечивающих целостность клеточных компартментов сперматозоида во время процедуры замораживания-оттаивания, а также возможности сохранения их функциональной активности. Качество нативного семени во многом определяет ее криосохранность [1]. В связи с этим, встает вопрос о поиске предиктивных биомаркеров, обеспечивающих выявление особей с высокой криотолерантностью спермы петухов.

Фертильность спермы определяется, в первую очередь, высокой подвижностью, необходимой для преодоления половых путей самки и достижения женской гаметы. Этот процесс требует энергии в форме АТФ (аденозинтрифосфат). Митохондрии являются основным источником АТФ в сперматозоидах, и любое изменение функционирования этих органелл ведет к снижению подвижности сперматозоидов [2,3]. Митохондрии имеют внешнюю и внутреннюю мембраны, которые содержат собственные специфические ионные каналы, транспортеры и насосы, регулирующие ионный гомеостаз митохондрий, их функционирование и поддержание митохондриального мембранного потенциала ($\Delta\Psi m$) [4]. При этом функциональная активность митохондрий в мужских гаметах имеет тесную взаимосвязь с гомеостазом кальция (Ca^{2+}). Успешное оплодотворение невозможно без исправно функционирующей системы регуляции кальциевого гомеостаза в гаметах. Ионы кальция играют ключевую для инициации подвижности мужской гаметы, гиперактивации, капацитации, акросомной реакции и, следовательно, оплодотворения [5, 6].

Цель исследования – идентификация эффектов сверхнизких температур на подвижность заморожено/оттаянных мужских гамет *Gallus Gallus d.*, митохондриальную активность и содержание в них внутриклеточного Ca^{2+}.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объектом исследования служили образцы свежеполученных эякулятов и заморожено/оттаянного семени петухов (*Gallus gallus domesticus*), (♂n = 10) породы царскосельская (селекция ВНИИГРЖ) в возрасте 61–63 недель (ЦКП «Генетическая коллекция редких и исчезающих пород кур»). Сперму получали методом абдоминального массажа в пенициллиновые флаконы дважды в неделю, в течение двух недель. Криоконсервацию проводили по методике, разработанной

Л.Е. Нарубиной, А.Д. Курбатовым и др., путем прямого накапывания семени в жидкий азот. В экспериментах для криоконсервации гамет использовали разбавитель ЛКС-1 в соотношении 1:1, в качестве криопротектора применяли N, N-диметилацетамид (DMA) (Sigma (Aldrich, США) в конечной концентрации 6%. Оттаивание гранул производили на нагретой металлической пластине (t = 60 °C).

Для оценки общей подвижности сперматозоидов использовали программное обеспечение Аргус-CASA, (Аргуссофт, Санкт-Петербург). Концентрация сперматозоидов определялась с помощью фотометра Accuread (IMV, США). Объем эякулятов измерялся градуированной пипеткой.

Оценку показателей жизнеспособности (целостность плазматических мембран) и функциональной активности нативных и заморожено/оттаянных сперматозоидов (митохондриальная активность, содержание внутриклеточного Ca^{2+}) проводили с использованием проточного цитометра Cytoflex (Beckman Coulter Inc., США). Для каждого образца исследовали не менее 2000 событий при скорости потока 50 клеток/сек. Популяцию сперматозоидов отбирали с помощью бокового светорассеяния (SSC-A) и малоуглового светорассеяния (FSC-A) для исключения дебриса, посторонних клеток и конгломератов сперматозоидов. Для анализа данных, полученных на проточном цитофлуориметре, использовали программное обеспечение CytExpert, Version 2.4.0.28 (Beckman Coulter Inc., США).

Оценку мембранного потенциала митохондрий ($\Delta\Psi m$) в мужских гаметах определяли с помощью флуоресцентного красителя тетраметилродамина (TMRE). Данный краситель селективно накапливается в активных митохондриях благодаря трансмембранному потенциалу, который митохондрии поддерживают в нормальном состоянии. Деполяризация митохондрий вследствие запуска процессов апоптоза, некроза или других факторов, что характеризуется уменьшением мембранного потенциала и, как следствие, уменьшением накопления красителя и его флуоресценции по сравнению с интактными клетками, имеющими поляризованные митохондрии. Таким образом, популяция клеток подразделяется на группу с низкой митохондриальной активностью (низкая интенсивность флуоресценции TMRE) и высокой митохондриальной активностью (высокая интенсивность флуоресценции TMRE).

Для этого к образцам семени с концентрацией сперматозоидов $3x10^6$/мл добавляли раствор TMRE до конечной концентрации 1 мкМ и инкубировали в темноте 20 мин при t=25°C, после чего дважды отмывали образцы клеток от остатков флуорохрома (1200 об./мин в течение 7 мин).

Оценку содержания внутриклеточных ионов Ca^{2+} в сперматозоидах определяли с помощью флуоресцентного зонда Fluo3-AM. Данный краситель метаболизируется внутриклеточными эстеразами, после чего способен связываться с Ca^{2+}, что ведет к появлению зеленого флуоресцентного сигнала, интенсивность которого зависит от содержания внутриклеточного Ca^{2+}. Таким образом, популяция клеток исследуемых образцов разделяется на субпопуляции: с высокой интенсивностью свечения Fluo3-AM (высокое содержание внутриклеточного кальция) и низкой интенсивностью свечения Fluo3-AM (низкое содержание внутриклеточного кальция). Пробоподготовку проводили, как и для флуоресцентного красителя TMRE, добавляли Fluo3-AM в конечной концентрации 2 мкМ. После отмывки красителя непосредственно перед оценкой образцов на проточном цитометре к пробам добавляли флуорохром – PI (пропидия йодид, конечная концентрация 1мкМ), для оценки целостности цитоплазматической мембраны клеток.

Статистическую обработки данных проводили с помощью программного обеспечения Micrisoft Excel 2021 и Statistica 7.0. Данные в работе представлены в виде средних значений (M) и стандартных ошибок средних (SEM). Различия групп нативного и заморожено-

оттаянного семени оценивали по критерию Манна Уитни. Корреляционный анализ выполняли с использованием коэффициента Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Первым этапом экспериментальной работы являлась оценка показателей качества нативной спермы петухов (n особей =10). Непосредственно после взятия спермы был оценен объем эякулятов, диапазон значений составил от 0,14±0,04 до 0,67±0,02 мл, а значение концентрации сперматозоидов в эякуляте имело диапазон от 1,802±0,299 до 4,687±0,328 млрд/мл. Стоит отметить, что при анализе данных показателей наблюдали высокую индивидуальную изменчивость (коэффициенты вариации составили 48,26% и 34,08% соответственно), тогда как у каждого отдельного производителя, от взятия к взятию эякулятов, в этих показателях была выявлена высокая повторяемость. Низкий коэффициент вариации отмечен при оценке общей подвижности сперматозоидов – 14,78%, а диапазон значений составил от 52,00±5,76 до 87,67±0,33%. Также была выявлена положительная взаимосвязь между объемом эякулята и концентрацией в нем сперматозоидов – 0,58 ($p<0,01$) (Таблица 1).

Таблица 1 – Показатели качества нативных сперматозоидов петухов (n особей =10)

№ петуха	Объем эякулята, мл	Концентрация сперматозоидов, млрд/мл	Общая подвижность, %
1	0,67±0,02	4,687±0,328	86,67±0,88
2	0,30±0,05	3,540±0,474	87,25±0,48
3	0,63±0,04	4,170±0,247	87,67±0,33
4	0,38±0,03	3,080±1,150	87,00±0,00
5	0,51±0,11	3,173±0,192	52,00±5,76
6	0,31±0,07	3,798±0,567	83,50±3,18
7	0,20	2,310	85,00
8	0,46±0,04	2,743±0,489	84,25±1,75
9	0,34±0,06	3,503±0,852	82,75±1,32
10	0,14±0,04	1,802±0,299	87,00±0,88
M	0,40	3,323	81,48
CV	48,26	34,08	14,78

Примечание: данные представлены в виде M±SEM, CV – коэффициент вариации (%)

Цитофлуориметрический анализ митохондриальной активности сперматозоидов в нативных эякулятах показал, что доля сперматозоидов с высокой митохондриальной активностью фиксировалась в диапазоне от 74,03±2,00 % до 88,58±0 % (Таблица 2). Выявлена взаимосвязь между общей подвижностью гамет и долей клеток с высокой митохондриальной активностью – 0,42 ($p<0,05$), что подтверждается результатами других исследований, оценивающих вовлеченность митохондрий в кинетические показатели сперматозоидов сельскохозяйственных животных [7].

Согласно результатам ряда исследований, внутриклеточные ионы Ca^{2+} играют ключевую роль в передаче сигналов, направленных на изменение энергетического обмена, непосредственно влияющего на подвижность мужских гамет и инициацию акросомальной реакции [8], что подтверждается данными, указывающими на высокую подвижность сперматозоидов с интактной плазматической мембраной [9]. В наших исследованиях оценка содержания ионов Ca^{2+} в сперматозоидах нативных эякулятов петухов выявила его

более высокий уровень в клетках с интактной плазматической мембраной (среднее значение показателя 56,48±3,37%), в отличие от клеток с высоким содержанием внутриклеточного Ca^{2+} и поврежденной мембраной (среднее значение показателя 3,51±0,81%, $p<0,05$), что может указывать на участие Ca^{2+} в процессах, детерминирующих жизнеспособность и функциональную активность клеток [10,11] (Таблица 2). Следует отметить высокие коэффициенты вариации для всех значений (доли гамет с низким и высоким уровнем содержания Ca^{2+} в интактных и поврежденных клетках), которые составили 50,94, 140,48, 110,97 и 28,62%, соответственно. Такие высокие значения, вероятно, свидетельствуют об индивидуальной чувствительности данных признаков к воздействию внешних факторов.

Таблица 2 – Кальциевый гомеостаз в нативных сперматозоидах с интактной и поврежденной цитоплазматической мембраной (n особей =10)

№ петуха	Fluo-3AM-/ PI-, %	Fluo-3AM-/ PI+, %	Fluo-3AM+ /PI+, %	Fluo-3AM+ /PI-, %	TMRE+,%
1	27,38±7,52	1,44±1,23	2,75±0,37	68,43±8,39	83,93±2,08
2	33,38±21,89	5,60±3,50	6,23±3,39	54,78±17,26	84,02±3,38
3	41,36±6,59	0,58±0,41	0,61±0,06	57,46±6,25	75,71±2,22
4	61,94	0,00	0,31	37,74	82,41±2,18
5	23,12±8,24	6,99±4,56	4,79±2,19	65,10±1,46	74,03±2,00
6	39,10±11,79	0,92±0,88	1,83±1,23	58,14±10,44	82,62±1,02
7	69,69	1,21	0,50	28,60	88,58
8	36,08±5,95	0,84±0,26	6,57±2,95	56,52±5,15	80,63±2,62
9	44,04±10,37	1,71±1,64	1,80±0,62	52,45±11,31	74,56±2,94
10	24,78±4,60	7,09±3,22	3,88±3,26	64,27±11,07	84,23±0,46
M	37,34	2,67	3,51	56,48	80,27
CV	50,94	140,48	110,97	28,62	7,00

Примечание: данные представлены в виде M±SEM, CV – коэффициент вариации (%), Fluo-3AM-/PI-: доля гамет с низким содержанием ионов Ca2+ и интактной плазматической мембраной, Fluo-3AM-/PI+: доля гамет с низким содержанием ионов Ca^{2+} и поврежденной плазматической мембраной, Fluo-3AM+/PI+: доля гамет с высоким содержанием ионов Ca^{2+} и поврежденной плазматической мембраной, Fluo-3AM+/PI-: доля гамет с высоким содержанием ионов Ca^{2+} и интактной плазматической мембраной; TMRE+: доля клеток с высокой митохондриальной активностью.

Эффекты криоконсервации на сперматозоиды, вызываются воздействием ультранизких температур, вызывая холодовой шок. При этом происходят изменения осмолярности и показатели окислительного стресса, что приводит к снижению жизнеспособности, вследствие повреждения плазматических мембран мужских гамет [12]. В нашем исследовании наблюдали изменение ряда показателей (Таблица 3). Так, доля клеток с высоким митохондриальным потенциалом значительно снизилась, составив 47,53±1,77% (в нативных сперматозоидах процент клеток с вышеуказанным показателем составил 80,27±1,04%, $p<0,05$), что подтверждается результатами других исследователей [13] Доля клеток с высоким содержанием ионов Ca^{2+} в клетках с интактной плазматической мембраной снизилась и составила в среднем 9,97±0,74%, в сравнении с образцами нативной спермы 56,48±3,37%. Была обнаружена корреляция между популяцией клеток с высоким содержанием Ca^{2+} и долей клеток с высоким митохондриальным потенциалом

(r^2=0,40, p<0,05), что может указывать на непосредственное вовлечение ионов Ca^{2+} в регуляторные механизмы функциональной активности митохондрий в замороженно/оттаянных мужских гаметах. Результаты исследований Kumaresan A. et al. объясняли пониженное содержание ионов Ca^{2+} их вытеснением вследствие нарушения целостности плазматической мембраны в сперматозоидах хряков и, как следствие, утечкой ионов Ca^{2+} [14].

Таблица 3 – Содержание ионов Ca^{2+}, целостность плазматических мембран и митохондриальная активность замороженно/оттаянного семени (n особей=10)

№ Петуха	Fluo-3AM-/PI-, %	Fluo-3AM-/PI+, %	Fluo-3AM+/PI+, %	Fluo-3AM+/PI-, %	TMRE+, %
1	52,28±2,78	33,27±5,48	2,97±0,67	11,48±2,14	51,87±4,08
2	51,67±1,47	29,29±1,30	3,25±0,09	15,79±2,15	57,33±3,37
3	54,14±2,45	36,61±2,26	2,79±0,45	6,45±1,36	40,70±4,58
4	41,94	41,89	3,90	12,28	52,73±2,55
5	43,34±3,42	43,30±2,31	4,13±0,42	9,24±2,44	36,13±2,61
6	28,86±5,56	60,34±7,90	2,60±0,40	8,19±2,30	26,65±0,69
7	60,58±2,44	27,29±1,64	2,03±0,40	10,10±1,32	62,02±1,88
8	49,18±4,33	31,95±3,63	9,72±1,75	9,16±0,78	50,59±1,59
9	43,73±9,09	41,27±9,70	6,19±1,99	8,81±2,45	43,56±0,24
10	0,00	0,00	0,00	0,00	55,03±4,15
M	47,79	37,84	4,41	9,97	47,53
CV	23,12	32,52	69,55	37,88	23,27

Примечание: данные представлены в виде M±SEM, M – среднее значение всех образцов, CV – коэффициент вариации (%), Fluo-3AM-/PI-: доля гамет с низким содержанием ионов Ca2+, в клетках с интактной плазматической мембраной, Fluo-3AM-/PI+: доля гамет с низким содержанием ионов Ca^{2+}и поврежденной плазматической мембраной, Fluo-3AM+/PI+: доля гамет с высоким содержанием ионов Ca^{2+} и поврежденной плазматической мембраной, Fluo-3AM+/PI-: доля гамет с высоким содержанием ионов Ca^{2+}и интактной плазматической мембраной, TMRE+: доля клеток с высокой митохондриальной активностью.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Анализ содержания ионов Ca^{2+} в сперматозоидах нативных эякулятов петухов выявил его более высокий уровень в клетках с интактной плазматической мембраной (56,48±3,37%), в отличие от поврежденных клеток (3,51±0,81%, p<0,05) После цикла замораживания/оттаивания отмечено значительное снижение доли клеток с высоким содержанием ионов Ca^{2+} в клетках с интактной плазматической мембраной (среднее значение 9,97±0,74%), в сравнении с клетками в образцах нативной спермы (среднее значение 56,48±3,37).

В целом, анализ полученных результатов свидетельствует о том, что определение содержания внутриклеточного Ca^{2+} в сперматозоидах, в комплексе с другими, рассмотренными в нашем исследовании биомаркерами качества нативных и декриоконсервированных сперматозоидов, может рассматриваться в качестве кандидата эффективного превентивного молекулярного биомаркера для скрининга исходной популяции мужских гамет с целью их использования в технологии криоконсервации семени птиц.

CALCIUM HOMEOSTASIS IN NATIVE AND DECRYOPRESERVED SPERMATOZOA OF GALLUS GALLUS D.

Kurochkin A.A.* – Junior Researcher,

Laboratory of Developmental Biology (ORCID 0000-0003-4430-4770); **Kuzmina T.I.** – Doctor of Biological Sciences, Professor, Chief Researcher, Head of the Laboratory of Developmental Biology (ORCID 0000-0002-4218-6080); **Pleshanov N.V.** – biologist Laboratory of Developmental Biology (ORCID 0000-0002-4634-7515); **Prituzhalova A.O. –** Researcher, Laboratory of Developmental Biology (ORCID 0000-0002-2865-9582)

**kurochkin.anton.66@gmail.com*

Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding — Branch of the L.K. Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry, St. Petersburg, Russia.

Funding: *The work was supported by the Russian scientific foundation project No. 25-16-00131.*

ABSTRACT

Modern poultry farming actively use assisted reproductive technologies, particularly sperm cryopreservation, which effectiveness depends on maintaining cell integrity and functional activity. In order to early identify roosters with high frozen/thawed semen quality, a search is underway of highly informative biomarkers, determines sperm quality. Mitochondria, which produce ATP, play a key role in sperm motility and activity, including through ion transduction (Ca^{2+}). The object of the study were samples of freshly obtained ejaculates and frozen/thawed semen (♂n = 10) of the Tsarskoye Selo breed (selection of the All-Russian Research Institute of Gastroenterology and Gastroenterology) at the age of 61–63 weeks. Study revealed high interindividual variability in volume of native ejaculates and sperm composition. Proportion of cells with elevated intracellular Ca^{2+} levels was significantly higher in live sperm (56.48±3.37%) compared to dead cells (3.51±0.81%). Following a freeze/thaw cycle, population of viable cells with elevated intracellular Ca^{2+} levels in male gametes decreased and formed at 9.97±0.74%. Thus, level of intracellular Ca^{2+} in spermatozoa, in combination with other currently available bioindicators of male gamete stability and functional activity (mitochondrial activity) within framework of sperm quality and cryoresistance assessment protocols, can serve as an effective preventative biomarker for cryopreservation technology.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Mohammad M. S., Mardenli O., AL-Tawash A. S. A. Evaluation of The Cryopreservation Technology of Poultry Sperm: A Review Study. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2021: 735;012016. DOI 10.1088/1755-1315/735/1/012016.
2. Nowicka-Bauer K., Lepczynski A., Ozgo M., Kamieniczna M., Fraczek M., Stanski L., Olszewska M., Malcher A., Skrzypczak W., Kurpisz M.K. Sperm mitochondrial dysfunction and oxidative stress as possible reasons for isolated asthenozoospermia. J. Physiol. Pharmacol. 2018;69 doi: 10.26402/jpp.2018.3.05.
3. Nowicka-Bauer K., Szymczak-Cendlak M. Structure and Function of Ion Channels Regulating Sperm Motility-An Overview. Int J Mol Sci. 2021;22(6):3259. doi:10.3390/ijms22063259
4. Bravo A., Treulen F., Uribe P., Boguen R., Felmer R., Villegas J.V. Effect of mitochondrial calcium uniporter blocking on human spermatozoa. Andrologia. 2015;47:662–668. doi: 10.1111/and.12314.
5. Денисенко В. Ю. Влияние ингибиторов протеинкиназ на акросомную реакцию и внутриклеточный Ca2+ в сперматозоидах быков // Достижения науки и техники АПК. 2020;34(5):65–68. doi: 10.24411/0235-2451-2020-10513.
6. Okunade G. W., Miller M. L., Pyne G. J., Sutliff R. L., O'Connor K. T., Neumann J. C., Andringa A., Miller D. A., Prasad V., Doetschman T., Paul R. J., Shull G. E. Targeted ablation of plasma membrane Ca2+-ATPase (PMCA) 1 and 4 indicates a major housekeeping function for PMCA1 and a critical role in hyperactivated sperm motility and male fertility for PMCA4. The Journal of biological chemistry. 2004;279(32):33742

–33750. https://doi.org/10.1074/jbc.M404628200
7. Xu Z., Yan Q., Zhang K., Lei Y., Zhou C., Ren T., Gao N., Wen F., Li X. Mitochondrial Regulation of Spermatozoa Function: Metabolism, Oxidative Stress and Therapeutic Insights. Animals. 2025;15:2246. https://doi.org/10.3390/ani15152246.
8. Sushadi P. S., Kuwabara M., Maung E. E. W., Mohamad Mohtar M. S., Sakamoto K., Selvaraj V., Asano A. Arresting calcium-regulated sperm metabolic dynamics enables prolonged fertility in poultry liquid semen storage. Scientific reports. 2023;13 (1):21775. https://doi.org/10.1038/s41598-023-48550-2.
9. Hamad S. K., Elomda A. M., Sun Y., Li Y., Zong Y., Chen J., Abbas A. O., Stino F. K. R., Nazmi A., Mehaisen G. M. K. The In Vitro Evaluation of Rooster Semen Pellets Frozen with Dimethylacetamide. Animals. 2023; 11;13(10):1603. doi: 10.3390/ani13101603.
10. Garriga F., Codina-Benaiges J., Yeste M., Llavanera M. Calcium homeostasis role in preserving sperm function and metabolic activity during liquid storage of pig semen. Theriogenology. 2026;249; 117638. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2025.117638.
11. Khaeruddin, Ciptadi G., Yusuf M., Fattah A. H., Junaedi, Syamsuryadi B., Wahjuningsih, S. The Quality of Gaga Roosters Semen During Cold Storage Using a Diluent Supplemented with Sorbitol. Tropical Animal Science Journal. 2024;47(4):436-447. doi: 10.5398/TASJ.2024.47.4.436.
12. Authaida S., Ratchamak R., Boonkum W., Chankitisakul V. Increasing sperm production and improving cryosurvival of semen in aged Thai native roosters as affected by selenium supplementation. Animal bioscience. 2023;36(11), 1647–1654. https://doi.org/10.5713/ab.23.0079.
13. Zong Y., Li Y., Sun Y., Han X., Yuan J., Ma L., Ma H., Chen J., Mitochondrial aspartate aminotransferase (GOT2) protein as a potential cryodamage biomarker in rooster spermatozoa cryopreservation. Poultry Science. 2025; 104(2):104690. https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.104690.
14. Kumaresan A., Gonzalez R., Johannisson A., Berqvist A. S. Dynamic quantification of intracellular calcium and protein tyrosine phosphorylation in cryopreserved boar spermatozoa during short-time incubation with oviductal fluid. Theriogenology. 2014;82:1145–53. doi: 10.1016/j.theriogenology.2014.07.029.

REFERENCES

1. Mohammad M. S., Mardenli O., AL-Tawash A. S. A. Evaluation of The Cryopreservation Technology of Poultry Sperm: A Review Study. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2021: 735;012016. DOI 10.1088/1755-1315/735/1/012016.
2. Nowicka-Bauer K., Lepczynski A., Ozgo M., Kamieniczna M., Fraczek M., Stanski L., Olszewska M., Malcher A., Skrzypczak W., Kurpisz M.K. Sperm mitochondrial dysfunction and oxidative stress as possible reasons for isolated asthenozoospermia. J. Physiol. Pharmacol. 2018;69 doi: 10.26402/jpp.2018.3.05.
3. Nowicka-Bauer K., Szymczak-Cendlak M. Structure and Function of Ion Channels Regulating Sperm Motility-An Overview. Int J Mol Sci. 2021;22(6):3259. doi:10.3390/ijms22063259
4. Bravo A., Treulen F., Uribe P., Boguen R., Felmer R., Villegas J.V. Effect of mitochondrial calcium uniporter blocking on human spermatozoa. Andrologia. 2015;47:662–668. doi: 10.1111/and.12314.
5. Denisenko V. Yu. Effects of protein kinase inhibitors on the acrosome reaction and the concentration of intracellular Ca2+ in bovine spermatozoa. Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2020;34(5):65-8. [In russian]. doi: 10.24411/0235-2451-2020-10513.
6. Okunade G. W., Miller M. L., Pyne G. J., Sutliff R. L., O'Connor K. T., Neumann J. C., Andringa A., Miller D. A., Prasad V., Doetschman T., Paul R. J., Shull G. E. Targeted ablation of plasma membrane Ca2+-ATPase (PMCA) 1 and 4 indicates a major housekeeping function for PMCA1 and a critical role in hyperactivated sperm motility and male fertility for PMCA4. The Journal of biological chemistry. 2004;279(32):33742

–33750. https://doi.org/10.1074/jbc.M404628200
7. Xu Z., Yan Q., Zhang K., Lei Y., Zhou C., Ren T., Gao N., Wen F., Li X. Mitochondrial Regulation of Spermatozoa Function: Metabolism, Oxidative Stress and Therapeutic Insights. Animals. 2025;15:2246. https://doi.org/10.3390/ani15152246.
8. Sushadi P. S., Kuwabara M., Maung E. E. W., Mohamad Mohtar M. S., Sakamoto K., Selvaraj V., Asano A. Arresting calcium-regulated sperm metabolic dynamics enables prolonged fertility in poultry liquid semen storage. Scientific reports. 2023;13 (1):21775. https://doi.org/10.1038/s41598-023-48550-2.
9. Hamad S. K., Elomda A. M., Sun Y., Li Y., Zong Y., Chen J., Abbas A. O., Stino F. K. R., Nazmi A., Mehaisen G. M. K. The In Vitro Evaluation of Rooster Semen Pellets Frozen with Dimethylacetamide. Animals. 2023; 11;13(10):1603. doi: 10.3390/ani13101603.
10. Garriga F., Codina-Benaiges J., Yeste M., Llavanera M. Calcium homeostasis role in preserving sperm function and metabolic activity during liquid storage of pig semen. Theriogenology. 2026;249; 117638. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2025.117638.
11. Khaeruddin, Ciptadi G., Yusuf M., Fattah A. H., Junaedi, Syamsuryadi B., Wahjuningsih, S. The Quality of Gaga Roosters Semen During Cold Storage Using a Diluent Supplemented with Sorbitol. Tropical Animal Science Journal. 2024;47(4):436-447. doi: 10.5398/TASJ.2024.47.4.436.
12. Authaida S., Ratchamak R., Boonkum W., Chankitisakul V. Increasing sperm production and improving cryosurvival of semen in aged Thai native roosters as affected by selenium supplementation. Animal bioscience. 2023;36(11), 1647–1654. https://doi.org/10.5713/ab.23.0079.
13. Zong Y., Li Y., Sun Y., Han X., Yuan J., Ma L., Ma H., Chen J., Mitochondrial aspartate aminotransferase (GOT2) protein as a potential cryodamage biomarker in rooster spermatozoa cryopreservation. Poultry Science. 2025; 104(2):104690. https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.104690.
14. Kumaresan A., Gonzalez R., Johannisson A., Berqvist A. S. Dynamic quantification of intracellular calcium and protein tyrosine phosphorylation in cryopreserved boar spermatozoa during short-time incubation with oviductal fluid. Theriogenology. 2014;82:1145–53. doi: 10.1016/j.theriogenology.2014.07.029.

УДК: 636.034:636.082
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.534

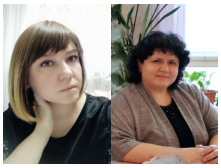
ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ, ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРОДУКТИВНЫХ КАЧЕСТВ И ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЙ СПОСОБНОСТИ ГОЛШТИНСКОГО СКОТА ПО ГЕНУ *SELP$_{ex8}$*

Сафина Н.Ю.* – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-1184-3188); **Гайнутдинова Э.Р.** – асп., науч. сотр. (ORCID 0000-0002-2970-1500); **Фаттахова З.Ф.** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-6083-2883)

Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства
ФИЦ КазНЦ РАН
*natysafina@gmail.com

Ключевые слова: ген, биоразнообразие, полиморфизм, *SELP$_{ex8}$,* Р-селектин, продуктивность, удой, жир, белок, фертильность, скот, быки
Key words: gene, biodiversity, polymorphism, *SELP$_{ex8}$*, P-selectin, productivity, milk yield, fat, protein, fertility, cattle, bulls
Финансирование: *Работа выполнена по государственному заданию: «Совершенствование комплексных отечественных технологий селекции, растениеводства и животноводства на основе идентификации высокоценных генотипов, молекулярно-генетических методов, биотехнологий, конструирования адаптивных и высокопродуктивных агробиоценозов и агроэкосистем для производства экологической и функциональной продукции. Номер регистрации: 125031003428-9».*

Поступила: 11.09.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025



РЕФЕРАТ

Исследование посвящено оценке влияния полиморфизма гена *SELP$_{ex8}$* (*Val475Met*) на генетические параметры, продуктивные и репродуктивные качества голштинского скота. Ген *SELP$_{ex8}$*, кодирующий Р-селектин, играет ключевую роль в иммунных и воспалительных процессах, а также участвует в формировании репродуктивной функции. В ходе работы были генотипированы 258 коров СХПК «ПЗ им. Ленина» Атнинского района и 67 быков-производителей АО «ГПП «Элита» Высокогорского района Республики Татарстан. В результате идентификации было установлено, что в обеих тестируемых группах преобладает аллель G – 0,835 и 0,791 у коров и быков соответственно. В поголовье коров встречаемость генотипов составила: GG – 69,0%, GA – 29,1% и AA – 1,9%. Среди быков не обнаружены особи-носители генотипа AA гена *SELP$_{ex8}$*, генотип GG имел долю 58,2%, а GA – 41,8%. Проведенный ассоциативный анализ полиморфных вариантов гена *SELP$_{ex8}$* с хозяйственно-полезными признаками показал, что особи с генотипом AA имеют рекордный уровень удоев, но при этом в молоке зафиксировано повышенное количество соматических клеток. Они так же характеризовались сниженной фертильностью и коротким периодом хозяйственного использования. Животные с генотипом GA демонстрировали повышенное содержание массовой доли жира и белка (%), а также выход молочного жира и белка. При этом они значимо ($p \leq 0,05…0,01$) превосхо-

дили сверстниц с другими генотипами по воспроизводительным качествам и продолжительностью хозяйственного использования. Полученные данные подчеркивают потенциал гена $SELP_{ex8}$ в качестве генетического маркера для программ селекции, направленных на улучшения здоровья, продуктивности и долголетия молочного скота. Исследование выполнено в рамках государственного задания, регистрационный номер 125031003428-9.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Благодаря развитию генных технологий и повышению целевых показателей в отрасли животноводства, соответствующих запросам потребителей и общества, появились новые методы селекции молочного скота, учитывающие его генетическое происхождение и линейную принадлежность [1, 2]. Программы племенного разведения, в основном ориентированные на высокие удои, привели к увеличению молочной продуктивности, сопровождающейся значительным снижением репродуктивной функции и здоровья коров [3, 4]. Внедрение маркерной селекции, как одного из этапов племенной работы, требует согласованных действий ученых и селекционеров. Исследования в области молекулярной генетики позволили глубже изучить биологические механизмы, определяющие ценные качества молочного скота, включая роль селектинов в формировании иммунитета и продуктивных характеристик [5].

Селектины – это семейство молекул клеточной адгезии, относящихся к С-типу лектинов. Они играют ключевую роль в иммунных и воспалительных процессах, протекающих в организме млекопитающих [6]. Селектины опосредуют прикрепление лейкоцитов к эндотелию сосудов, что чрезвычайно важно для процесса миграции иммунных клеток в очаги инфекции, включая воспаления молочной железы (мастит) у коров [7, 8].

У млекопитающих выделяют три типа селектинов: Е-селектин, L-селектин, Р-селектин. Не смотря на то, что большинство исследований селектинов и их полиморфизмов проведено на людях, у крупного рогатого скота также изучаются их генетические варианты и ассоциации с хозяйственно-полезными признаками.

Наиболее изученный и обладающий высокой степенью полиморфизма среди селектинов – ген *SELP* [9, 10]. Р-селектин (SELP, CD62P) – это гликопротеин, выделяется в тромбоцитах и эндотелиальных клетках, выступает рецептором, связывающим их с лейкоцитами, вовлечен в процесс адгезии тромбоцитов и лейкоцитов к поврежденным тканям [8]. Р-селектин играет ключевую роль в иммунном ответе на воспаление и образованию тромбозов, запускает локальную коагуляцию (свертывание крови) [11, 12]. Экспрессия Р-селектина на поверхности тромбоцитов является индикатором их активации и используется в диагностике нарушений гемостаза [12]. X. Chen с соавторами (2017) установили, что SELP также задействован в имплантации эмбриона и дальнейшем развитии плаценты [13]. Он также участвует в процессе миграции нейтрофилов (PMN) в желтое тело во время лютеолиза [14].

Ген *SELP* (Gene ID: 281486) локализован на *BTA16* (GenBank NC_037343.1) [15]. Обнаружено 9 SNP в экзонах *SELP*, включая три миссенс-мутации. Один из установленных SNP (rs378218397, миссенс-мутация *Val475Met*) гена *SELP* идентифицирован в экзоне 8 3'-UTR области гена между рецепторами CR4 и CR5, расположенного близко к потенциальному сайту гликозилирования N-ацетил-D-глюкозамина, что может влиять на стабильность и функцию белка [10, 15]. У людей аналогичные замены в *SELP* (например, *Thr715Pro*) связаны с нарушением гликозилирования и риском тромбозов, что подчеркивает консервативную роль домена CR4-CR5 [9]. Из этого следует предположение о возможном влиянии на плацентарное развитие из-за изменений в сигнальных путях воспаления, где Р -селектин играет ключевую роль. Мутация в гене $SELP_{ex8}$ (*Val475Met*) может нарушать адгезию трофобласта к эндометрию на ранних стадиях стельности.

Этот SNP rs378218397 гена $SELP_{ex8}$ ассоциирован рядом исследователей с такими признаками, как уменьшение числа успешных оплодотворений, преждевременное прерывание беременности, молочная продуктивность, сокращение периода хозяйственного использования и продолжительность жизни у коров [13, 15]. Зарубежные работы указывают на то, что ген *SELP* связан со значительными изменениями экспрессии в ткани молочной железы в ответ на интрамаммарную инфекцию, вызванную либо *E. coli*, либо *S. uberis*, в исследованиях генетических ассоциаций с содержанием соматических клеток в молоке. После заражения *E. Coli* и *S. uberis* наблюдается повышенная экспрессия молекулы адгезии P-селектина (SELP) [15, 16]. В исследованиях GWAS у буйволов ген *SELP* ассоциирован с возрастом первого отела, что может быть связано с его вовлеченностью в течение воспалительных процессов при фолликулярной атрезии у коров [11].

Все вышеизложенное указывает на то, что селектины, особенно *SELP,* являются важными генетическими маркерами племенных и продуктивных качеств крупного рогатого скота, что делает их перспективными генами-кандидатами для геномного отбора в программах разведения для улучшения целевых показателей животноводческой отрасли.

Цель исследования – оценить генетическое разнообразие, показатели продуктивных качеств и воспроизводительной способности голштинского скота по гену $SELP_{ex8}$.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В исследовании были использованы образцы проб крови 258 голов коров голштинской породы СХПК «Племенной завод им. Ленина» Атнинского района и 67 голов быков-производителей ГПП «АО «Элита» Высокогорского район Республики Татарстан. Выделение ДНК из замороженного биологического материала осуществляли посредством набора «GM Blood Q» (Sesana, Россия) согласно инструкции производителя. Для детекции полиморфизма *Val475Met* гена $SELP_{ex8}$ использовался комплект олигонуклеотидных праймеров (Евроген, Россия): F: 5' - GTG GAT GGT TTA GTT GCT AGG TT - 3' (23 п.о.), R: 5' - TGG GAT TGC TGT GGG TTT - 3' (18 п.о.) [13]. Дозы внесения реагентов (СибЭнзим, Россия) в реакционную смесь для ПЦР, содержащую геномную ДНК, и температурно-временные режимы для амплификации были разработаны и апробированы в лаборатории отдела физиологи, биохимии, генетики и питания животных ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН [5]. Интерпретацию визуализированных образцов проводили согласно выявленным сочетаниям фрагментов, полученных в результате ПДРФ-анализа.

При вычислении расчетных показателей для генетических групп использовались данные первичного зоотехнического и ветеринарного учета из ИАС «СЕЛЭКС. Молочный скот» (АРМ «Плинор», Россия). Обработку данных производили на ПК с применением формул биометрического анализа в генетике и разведении, предложенных Е.К. Меркурьевой (1977), Г.Н. Шангиным-Березовским (1983), И.М. Дуниным (1996), Я. Дохи (1961).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В ходе генотипирования крупного рогатого скота по гену $SELP_{ex8}$ были идентифицированы 2 аллеля – G и A (Рис. 1). В разрезе обоих анализируемых стад наблюдается преобладание «нормального» аллеля над «мутантным».

В опытном поголовье коров их распределение составило 0,835 и 0,165 соответственно (Табл. 1).

Частота встречаемости генотипов GG, GA и AA, установленных у животных исследуемой популяции, находилась на уровне 69,0 %, 29,1 % и 1,9 %. Быки-производители имели распространенность аллелей: G – 0,791 и A – 0,209. Однако среди их числа не обнаружены особи-носители генотипа AA гена $SELP_{ex8}$. Доля животных с генотипами GG имела максимальное значение – 58,2%, а распространенность быков с генотипами GA была 41,8%.

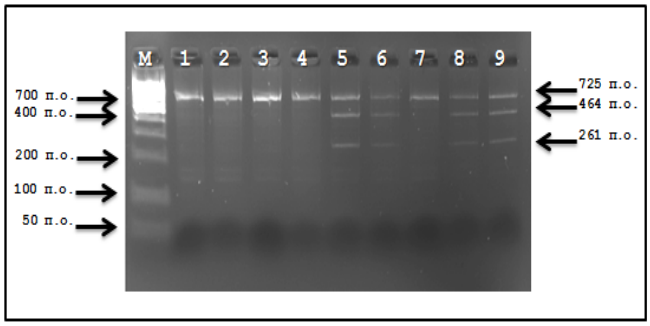


Рисунок 1 – Электрофореграмма продуктов ПЦР-ПДРФ, расщепленных эндонуклеазой FauND I (37 °C, 2 ч., сайт узнавания CA↑TATG / GTAT↓AC) гена $SELP_{ex8}$; аллели G – 725 п.о. и A - 464, 261 п.о. (M – маркер 50-1000 п.о., 1, 2, 3, 4, 7 – генотип GG, 5, 6, 8, 9 – генотип GA).

Таблица 1 – Частота встречаемости аллелей и генотипов гена $SELP_{ex8}$ и параметры генетического разнообразия популяций

	Генотипы						Аллели		χ^2	*Fis*	*PIC*
	n	%	n	%	n	%					
	GG		***GA***		***AA***		***G***	***A***			
Коровы-первотелки (N = 258)											
Н	178	69,0	75	29,1	5	1,9	0,835	0,165	0,83	-0,057	0,475
О	180	69,8	71	27,5	7	2,7					
Быки-производители (N = 67)											
Н	39	58,2	28	41,8	0	0,0	0,791	0,209	4,68	-0,264	0,552
О	42	62,6	22	33,1	3	4,4					

Примечание: $\chi^2_{крит}$ (0,05) = 5,99; Fis – индекс фиксации; PIC – мера информационного полиморфизма (PIC < 0,25 – слабый полиморфизм, 0,25 < PIC < 0,50 - умеренный полиморфизм, PIC > 0,50 – сильный полиморфизм).

Генетическое тестирование голштинских первотелок X. Chen с соавторами, проведенное на 18 коммерческих фермах, показало, схожую частоту встречаемости генотипов гена $SELP_{ex8}$: для генотипа GG – 67,0%, AG и AA – 32,0 и 1,0 % соответственно. В этом исследовании наблюдался дефицит гомозигот AA, что, по их мнению, указывает на возможную эмбриональную летальность или сниженную выживаемость таких особей [13].

В результате оценки вариабельности наблюдаемого и ожидаемого распределения аллелей и генотипов гена $SELP_{ex8}$ методом критерия хи-квадрат установлено, что опытные популяции коров и быков-производителей находятся в генетическом равновесии согласно закону Харди-Вайнберга. Полученные значения χ^2 (0,83 и 4,68) ниже критического $\chi^2_{0,05}$ = 5,99.

В популяции коров-первотелок наблюдается слабая отрицательная фиксация (*Fis* = -0,057), что свидетельствует о незначительном избытке гетерозигот, и умеренный полиморфизм (*PIC* = 0,475), указывающий на достаточное генетическое разнообразие. В то же время у быков-производителей выявлена умеренная отрицательная фиксация (*Fis* = -0,264), что говорит о более выраженном избытке гетерозигот, и сильный полиморфизм (*PIC* = 0,522), демонстрирующий высокий уровень генетического разнообразия в этом поголовье.

Для оценки практического применения выявленных генетических особенно-

стей было проведено сравнение показателей молочной продуктивности у животных с разными генотипами гена $SELP_{ex8}$. Исходя из представленных данных в таблице 2, можно увидеть следующую тенденцию GA > AA > GG в увеличении продолжительности лактации (количество дойных дней) у коров, имеющих разные генотипы.

По удою преимущество наблюдалось у животных с генотипами AA над особями с генотипами GA и GG соответственно – за полную на 922,1 и 1382,6 кг (10,7 и 16,0 %; $p \leq 0,001$), и на 870,1 и 1133,3 кг (10,9 и 14,2 %; $p \leq 0,001$) за (305 дн.) лактацию. Эта же генетическая группа превосходила сверстниц по коэффициенту молочности на 195,8 и 239 (12,6 и 15,4 %; $p \leq 0,001$) и по коэффициенту устойчивости лактации на 8,4 и 1,6 у первотелок с генотипами GA и GG.

Таблица 2 – Показатели молочной продуктивности коров разных генотипов гена $SELP_{ex8}$

Показатель	Генотип GG	Генотип GA	Генотип AA
Дойные дни, дн.	314,5±10,2	336,2±17,2	324,8±16,1
Удой за полн. лактацию, кг	7211,8±197,1	7662,3±132,8	8584,4±80,8***
Удой за 305 дней лактации, кг	6857,5±92,3	7120,7±123,4	7990,8±61,2***
Коэффициент молочности	1314,7±18,3	1357,9±25,8	1553,7±31,0***
Коэффициент устойчивости лактации	99,2±1,1	92,4±1,7	100,8±3,8

*Примечание: * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; *** – $p \leq 0,001$ в сравнении большего показателя с меньшим.*

Таблица 3 – Показатели качественного и физико-химического состава молока коров с разными генотипами гена $SELP_{ex8}$

Показатель	Генотип *GG*	Генотип *GA*	Генотип *AA*
Массовая доля жира, %	3,45±0,05	3,67±0,08***,*	3,17±0,10
Массовая доля белка, %	3,39±0,02	3,44±0,03***	2,83±0,03
Выход молочного жира, кг	236,6±4,21	261,3±7,07**	253,3±5,9
Выход молочного белка, кг	232,5±3,65	245,0±4,18**,*	226,1±4,71
Сумма молочного жира и белка, кг	469,1±7,1	506,3±10,7**,*	479,4±8,3
СОМО, %	8,74±0,03	8,81±0,03	8,49±0,02
Соматические клетки, тыс./см³	343,9±16,4	374,4±32,7	568,5±69,3*

*Примечание: * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; *** – $p \leq 0,001$ в сравнении большего показателя с меньшим.*

Помимо количественных показателей важную роль играет его состав и технологические свойства (табл. 3). Статистически значимое большее содержание массовой доли жира в молоке опытных коров различных генотипов установлено между группами животных GA и AA на 0,50% ($p \leq 0,001$), а между GA и GG – 0,22% ($p \leq 0,05$) по гену $SELP_{ex8}$.

Анализ полиморфизма гена $SELP_{ex8}$ показал высокое влияния на содержание массовой доли белка в молоке коров с генотипами GA, опережающих по этому показателю сверстниц с генотипами AA на 0,61% ($p \leq 0,001$) и генотипами GG на 0,05% ($p \leq 0,001$). При этом результат, установленный у животных GG-типа, превосходил уровень белка в молоке коров с генотипами AA на 0,56%.

Коровы-первотелки с генотипами GA гена $SELP_{ex8}$ характеризовались так же повышенным выходом молочного жира

(кг) и молочного белка (кг). Их показатели были выше, чем у особей с генотипами GG на 24,7 и 12,5 кг (9,5 и 5,1 %; $p \leq 0,01$), и на 8,0 и 18,9 кг (3,1 и 7,7 %; $p \leq 0,05…0,01$), чем у группы с генотипами AA, соответственно.

По сумме молочного белка и жира по гену $SELP_{ex8}$ выявлен ее достоверный более высокий уровень у коров с генотипом GA, как по отношению к генотипу GG на 37,2 кг (7,3%; $p \leq 0,01$), так и к AA-типу на 26,9 кг (5,3%; $p \leq 0,05$).

Животные генотипа GA гена $SELP_{ex8}$ так же характеризуются высоким содержанием СОМО в молоке. Разница по этому показателю составила между ними и животными с генотипом AA 0,32%, а с генотипом GG – 0,07%.

Содержание соматических клеток в молоке достоверно увеличено у животных с генотипом *AA* ($p \leq 0,05$) по сравнению с животными генотипов GG и GA гена $SELP_{ex8}$ на 224,6 и 194,1 тыс./см^3 (39,5 и 34,1 %) соответственно, что свидетельствует о возможной связи этого генетического варианта со склонностью к воспалительным процессам в вымени.

В таблице 4 представлено влияние различных генотипов гена $SELP_{ex8}$, оказываемое на показатели воспроизводительных качеств.

Таблица 4 – Показатели воспроизводительной способности коров

Показатель	Генотип GG	Генотип GA	Генотип AA
Возраст 1 плод. осеменения, мес.	18,3±0,22	18,4±0,32	18,8±0,96
Живая масса при 1 плод. осеменении, кг	420,6±2,6	432,9±5,3*	426,4±15,4
Живая масса при 1 отёле, кг	521,6±4,5	524,4±5,6	514,3±10,5
Кратность осеменения	1,08±0,02	1,15±0,04	1,20±0,20
Сервис-период, дн.	125,4±5,4*	96,2±12,1	133,6±8,4*
Межотёльный период, дн	388,3±4,7	374,4±8,1	395,5±6,7*
Сухостойный период, дн.	55,7±1,3	49,6±4,1	57,0±1,8*
Выход телят на 100 коров, гол.	84,1±1,4	94,3±4,1**,*	81,2±2,1

*Примечание: * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; *** – $p \leq 0,001$ в сравнении большего показателя с меньшим.*

Полученные данные указывают на то, что в момент 1-го плодотворного осеменения между генетическими группами животных не было статистически значимых различий по возрасту. Этот показатель был несущественно вариативен – от 18,3 до 18,8 мес. Однако у коров с генотипом GA гена $SELP_{ex8}$ в этот период уровень живой массы был выше, чем у гомозиготных GG-особей, на 12,3 кг (2,8%; $p \leq 0,05$).

У первотелок с генотипом AA зарегистрирована большая кратность осеменений на удачное оплодотворение, что негативно характеризует показатель фертильности этой генетической группы.

Статистический анализ выявил значимое удлинение сервис-периода ($p \leq 0,05$) у коров с генотипами AA и GG по сравнению с животными генотипа GA на 23,3 и 28,0 % соответственно.

Протяженность межотельного периода достоверно увеличена на 21,1 дн. у коров с генотипом AA относительно животных генотипа GA (5,3%, $p \leq 0,05$). По длительности сухостойного периода наблюдалось его возрастание у особей с генотипами GG и AA гена $SELP_{ex8}$ ($p \leq 0,05$) – на 6,1 и 7,4 дн. или 10,8 и 13,0 % больше по сравнению с носителями генотипа GA.

Расчетный показатель выхода телят на 100 коров подтверждают хорошие репродуктивные качества первотелок с генотипами GA. Статистически значимая ($p \leq 0,05…0,01$) разница между группами

особей с генотипами GA и GG – 10,2 гол. (10,8%), GA и AA – 13,1 гол. (10,9%).

Согласно анализу исследований коммерческих популяций голштинского скота зарубежными коллегами установлено, что гетерозиготные GA-животные по гену $SELP_{ex8}$ имели более поздний возраст первого отела и увеличенный интервал между отелами, по сравнению с особями генотипа GG [10]. При этом X. Chen с коллегами (2016) сообщают, что генотип AA был малочисленный, и встречался только у 1,0%. Авторы связывают эту низкую частоту с возможным отрицательным воздействием данного генотипа на выживаемость на эмбриональной стадии. Это предположение подтверждается их наблюдениями: только 2 из 4 коров AA генотипа смогли успешно отелиться. Полученные результаты позволяют рассматривать генотип AA гена $SELP_{ex8}$ как потенциальный маркер сниженной фертильности у голштинских коров [10].

По нашим данным о выбраковке из опытного поголовья коров изучаемая популяция была представлена животными, выбывающими из стада примерно в одном возрастном периоде – 2-3 лактации. Самый короткий показатель продуктивного долголетия установлен у животных с генотипами AA – 2,50 лактации. Чуть продолжительнее период хозяйственного использования у особей с генотипами GG и GA гена $SELP_{ex8}$ – 2,72, и 2,82 лактации соответственно.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Изучение полиморфизма гена $SELP_{ex8}$ у голштинского скота подтвердило его значимое влияние на продуктивные и репродуктивные качества, а также выявило его значительное генетическое биоразнообразие в изучаемой популяции, что важно для сохранения генофонда породы. Установлено, что гетерозиготные GA-особи демонстрируют оптимальный баланс между молочной продуктивностью и воспроизводительной способностью. Коровы с генотипами AA ассоциированы с повышенным риском воспалительных процессов (высокое содержание соматических клеток в молоке) и сниженной фертильностью. Полученные данные подчеркивают потенциал гена $SELP_{ex8}$ в качестве генетического маркера для программ селекции, направленных на улучшения здоровья, продуктивности и долголетия молочного скота.

EVALUATION OF GENETIC DIVERSITY, PRODUCTIVE TRAITS AND REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF HOLSTEIN CATTLE BY THE $SELP_{ex8}$ GENE

Safina N.Yu.* – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher (ORCID 0000-0003-1184-3188), **Gaynutdinova E.R.** – Postgraduate Student, Researcher (ORCID 0000-0002-2970-1500); **Fattakhova Z.F.** – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher (ORCID 0000-0002-6083-2883)

Tatar Scientific Research Institute of Agriculture “Kazan Scientific Center of Russia Academy of Sciences

*natysafina@gmail.com

Financing: *The work was carried out according to a state assignment: «Improvement of complex domestic technologies of breeding, crop and livestock farming on the basis of identification of high-value genotypes, molecular-genetic methods, biotechnology, design of adaptive and highly productive agrobiocoenosis and agroecosystems for the production of ecological and functional products. Registration number: 125031003428-9».*

ABSTRACT

The study is devoted to assessing the effect of $SELP_{ex8}$ gene polymorphism (*Val475Met*) on genetic parameters, productive and reproductive performance of Holstein cattle. The $SELP_{ex8}$ gene encoding P-selectin, plays a key role in immune and inflammatory processes, and is also involved in the formation of reproductive function. The research involved genotyping 258 cows from the Lenin Breeding Farm Integrated Agricultural Production Center (IAPC), and 67 sires of the Parent breeding enterprise Elite (SC GPP), Vysokogorsky District, Republic of Tatarstan. As a result of identifica-

tion, it was found that the G allele predominates in both tested groups: 0.835 and 0.791 in cows and bulls, respectively. Genotype distribution among cows was: GG - 69.0%, GA - 29.1 and AA - 1.9 %. No AA genotypes were detected in bulls, with GG at 58.2% and GA at 41.8% Association analysis demonstrated that AA genotype animals achieved record milk yields but showed elevated somatic cell counts, reduced fertility, and shorter period of economic use. GA genotype animals exhibited significantly ($p \leq 0.05…0.01$) higher milk fat and protein content (both percentage and yield), along with superior reproductive performance and longevity compared to other genotypes. The obtained data highlight the potential of the *SELP$_{ex8}$* gene as a genetic marker for selection programs aimed at improving the health, productivity and longevity of dairy cattle. The study was carried out within the framework of the state assignment, registration number 125031003428-9.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Safina N.Y. Combination of polymorphism of the TFAM gene with growth dynamics, milk productivity and reproductive characteristics of cow-heifers / N.Y. Safina, T.M. Akhmetov, S.K. Shakirov et al. // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2018. – Vol. 9, No. 6. – P. 1528-1537.
2. Санова З.С. Сравнительная оценка молочной продуктивности коров разных генотипов / З. С. Санова // Вестник аграрной науки. – 2022. – № 4(97). – С. 52-56. DOI 10.17238/issn2587-666X.2022.4.52
3. Гайнутдинова Э.Р. Совместимость молочной продуктивности и воспроизводительной способности коров-первотелок голштинской породы / Э.Р. Гайнутдинова, Н.Ю. Сафина, Ш.К. Шакиров // Вестник Казанского государственного аграрного университета. – 2020. – Т. 15, № 2 (58). – С. 5-9.
4. Сафина Н.Ю. Идентификация полиморфизма гена APAF1 и его ассоциации с хозяйственно-полезными признаками голштинского скота / Н.Ю. Сафина, Е.Н. Муханина, Ш.К. Шакиров и др. // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 2. – С. 307-314. DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.2.307
5. Фаттахова З.Ф. ДНК-тестирование полиморфизма гена SELP$_{ex8}$ в популяции голштинского скота / З.Ф. Фаттахова, Н.Ю. Сафина, Э.Р. Гайнутдинова и др. // Достижения и перспективы развития АПК России : Материалы XIII Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых, посвященной памяти Р.Г. Гареева, Казань, 30–31 марта 2023 года. – Казань: Академия наук Республики Татарстан, 2023. – С. 477-479. DOI 10.37071/
conferencearticle_6581733e073c36.86636848
6. Kaur R. Structural and functional impact of SNPs in P-selectin gene: A comprehensive in silico analysis / R. Kaur, J. Singh, M. Kaur // Open Life Sci. – 2017. – Vol. 12. – P. 19–33. DOI 10.1515/biol-2017-0003
7. Dusza M. L-selectin gene polymorphism and its association with clinical mastitis, somatic cell score, and milk production in Polish Holstein-Friesian cattle / M. Dusza, J. Pokorska, J. Makulska et al. // Czech J. Anim. Sci. – 2018. – Vol. 63(7). – P. 256–262. DOI 10.17221/96/2017-CJAS
8. Gutiérrez-Reinoso M.A. Genomic and Phenotypic Udder Evaluation for Dairy Cattle Selection: A Review / M.A. Gutiérrez-Reinoso, P.M. Aponte, M. García-Herreros // Animals. – 2023. – Vol. 13. – Art. 1588. DOI 10.3390/ani13101588
9. Chen X. Combining Genome Wide Association Studies and Differential Gene Expression Data Analyses Identifies Candidate Genes Affecting Mastitis Caused by Two Different Pathogens in the Dairy Cow / X. Chen, Zh. Cheng, Sh. Zhang et al. // Open Journal of Animal Sciences. – 2015. – Vol. 5. – P. 358-393. DOI 10.4236/ojas.2015.54040
10.Chen X. Bovine P-selectin mediates leukocyte adhesion and is highly polymorphic in dairy breeds / X. Chen, Zh. Cheng, D. Werling et al. // Research in Veterinary Science. – 2016. – Vol. 108. – P. 85–92. DOI 10.1016/j.rvsc.2016.08.004

11.De Camargo G.M.F. Prospecting major genes in dairy buffaloes / G.M.F. de Camargo, R.R. Aspilcueta-Borquis, M.R.S. Fortes et al. // BMC Genomics. –2015. – Vol. 16. – Art. 872 DOI 10.1186/s12864-015-1986-2
12.Ураков А.Л. Особенности экспрессии Р-селектина и агрегации тромбоцитов под действием лекарственных препаратов / А.Л. Ураков, А.В. Самородов, Ф.Х. Камилов и др. // Фармация. – 2017. – Т. 66, № 3. – С. 43-46.
13.Chen X. Polymorphisms in the selectin gene cluster are associated with fertility and survival time in a population of Holstein Friesian cows / X. Chen, S. Zhang, Z. Cheng et al. // PLoS One. – 2017. – Vol. 12(4). Art. e0175555. DOI 10.1371/journal.pone.0175555
14.Shirasuna K. Rapid accumulation of polymorphonuclear neutrophils in the corpus luteum during prostaglandin F(2alpha)-induced luteolysis in the cow. / K. Shirasuna, S. Jiemtaweeboon, S. Raddatz et al. // PLoS One. – 2012. – Vol. 7(1). – Art. e29054. DOI 10.1371/journal.pone.0029054
15.Gautier M. Syntenic assignment of the selectin P gene (SELP) to bovine chromosome 16 / M. Gautier, P. Laurent, A. Eggen // Animal Genetics. – 2000. – Vol. 31 (5). – P. 343–344.
16.Sodeland M. Quantitative Trait Loci for Clinical Mastitis on Chromosomes 2, 6, 14 and 20 in Norwegian Red Cattle / M. Sodeland, M.P. Kent, H.G. Olsen et al. // Animal Genetics. – 2011. –Vol. 42. – P. 457-465. DOI 10.1111/j.1365-2052.2010.02165.x

REFERENCES

1. Safina N.Y., Akhmetov T.M., Shakirov S.K., Khaertdinov R.A., Shaidullin R.R., Sofronov V.G., Danilova N.I. Combination of polymorphism of the TFAM gene with growth dynamics, milk productivity and reproductive characteristics of cow-heifers // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2018. -1537.
2. Sanova Z.S. Comparative assessment of milk productivity of cows of different genotypes Bulletin of agrarian science. 2022. 4 (97):52-56. DOI 10.17238/issn2587-666X.2022.4.52
3. Gaynutdinova E.R., Safina N.Yu., Shakirov Sh.K. Compatibility of dairy productivity and reproductive capacity of Holstein breed cows // Vestnik of Kazan State Agrarian University. 2020. 15, 2(58):5-9.
4. Safina N.Yu., Mukhanina E.N., Shakirov Sh.K., Gaynutdinova E.R. Identification of genetic polymorphism of the APAF1 gene and its association of with economic traits of Holstein cattle // International Journal of Veterinary Medicine. 2024. 2:307-314. DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.2.307
5. Fattakhova Z.F., Safina N.Yu., Gaynutdinova E.R., Shakirov Sh.K. DNA testing of SELPex8 gene polymorphism in a population of Holstein cattle // Achievements and development prospects of the Russian agro-industrial complex: Proceedings of the XIII All-Russian scientific and practical conference of young scientists dedicated to the memory of R.G. Gareev, Kazan, March 30–31, 2023. 477-479. DOI 10.37071/conferencearticle_6581733e073c36.86636848
6. Kaur R., Singh J., Kaur M. Structural and functional impact of SNPs in P-selectin gene: A comprehensive in silico analysis // Open Life Sci. 2017. 12:19–33. DOI 10.1515/biol-2017-0003
7. Dusza M., Pokorska J., Makulska J., Kulaj D., Cupial M. L-selectin gene polymorphism and its association with clinical mastitis, somatic cell score, and milk production in Polish Holstein-Friesian cattle. Czech J. Anim. Sci. 2018. 63(7): 256–262. DOI 10.17221/96/2017-CJAS
8. Gutiérrez-Reinoso M.A., Aponte P.M., García-Herreros M. Genomic and Phenotypic Udder Evaluation for Dairy Cattle Selection: A Review // Animals. 2023. 13:1588. DOI 10.3390/ani13101588
9. Chen X., Cheng Zh., Zhang Sh., Werling D., Wathes D.C. Combining Genome Wide Association Studies and Differential Gene Expression Data Analyses Identifies Candidate Genes Affecting Mastitis Caused by Two Different Pathogens in the Dairy Cow //

Open Journal of Animal Sciences. 2015. 5:358-393. DOI 10.4236/ojas.2015.54040
10.Chen X., Cheng Zh., Werling D., Pollott G.E., Salavati M., Johnson K.F., Khan F.A., Wathes D.C., Zhang Sh. Bovine P-selectin mediates leukocyte adhesion and is highly polymorphic in dairy breeds // Research in Veterinary Science. 2016. 108:85–92. DOI 10.1016/j.rvsc.2016.08.004
11.De Camargo G.M.F., Aspilcueta-Borquis R.R., Fortes M.R.S., Porto-Neto R., Cardoso D.F., Santos D.J.A., Lehnert S.A., Reverter A., Moore S.S., Tonhati H. Prospecting major genes in dairy buffaloes // BMC Genomics. 2015. 16:872 DOI 10.1186/s12864-015-1986-2
12.Urakov A.L., Samorodov A.V., Kamilov F.Kh., Mustafin I.G., Khaliullin F.A. P-selectin expression of and platelet aggregation under the action of drugs // Pharmacy. 2017. 66(3):43-46.
13.Chen X., Zhang S., Cheng Z., Cooke J.S., Werling D., Wathes D.C., Pollott G.E. Polymorphisms in the selectin gene cluster are associated with fertility and survival time in a population of Holstein Friesian cows // PLoS One. 2017. 12(4): e0175555. DOI 10.1371/journal.pone.0175555
14.Shirasuna K., Jiemtaweeboon S., Raddatz S., Nitta A., Schuberth H.J., Bollwein H., Shimizu T., Miyamoto A. Rapid accumulation of polymorphonuclear neutrophils in the corpus luteum during prostaglandin F (2alpha)-induced luteolysis in the cow. PLoS One. 2012. 7(1):e29054. DOI 10.1371/journal.pone.0029054
15.Gautier M., Laurent P., Eggen A. Syntenic assignment of the selectin P gene (SELP) to bovine chromosome 16 // Animal Genetics. 2000. 31(5):343–344.
16.Sodeland M., Kent M.P., Olsen H.G., Opsal M.A., Svendsen M. Quantitative Trait Loci for Clinical Mastitis on Chromosomes 2, 6, 14 and 20 in Norwegian Red Cattle // Animal Genetics. 2011. 42:457-465. DOI 10.1111/j.1365-2052.2010.02165.x

УДК: 636.082.453.53
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.544

ОПЫТ ПОЛУЧЕНИЯ И ОЦЕНКИ СПЕРМЫ У РЕМОНТНЫХ БЫЧКОВ В ПОСТПУБЕРТАТНЫЙ ПЕРИОД

Турлова Ю.Г. – канд. биол. наук, лаборатория биологии развития (ORCID 0000-0001-9845-1421); **Никиткина Е.В. –** канд. биол. наук, лаборатория биологии развития (ORCID 0000-0002-8496-5277); **Елохин Е.А. –** асп.; **Богданова С.С. –** лаборант-исследователь, лаборатория биологии развития (ORCID 0009-0007-9411-9887)

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»

* jturlova@gmail.com

Ключевые слова*: сперма, ремонтные бычки, постпубертатный период, электроэякуляция, прогрессивная подвижность, морфология.*

Keywords: *semen, young bulls, pubertat, electroejaculation, semen's assessement, progressive motility, morphology.*

Финансирование: *Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки, проект № 121052600354-7.*

Поступила: 11.09.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Современные методы оценки племенной ценности быков-производителей позволяют на ранних этапах жизни прогнозировать продуктивные качества потомства. Однако собственные воспроизводительные качества быка могут быть оценены после достижения им физиологической зрелости в 1,5-2 года. Исследователи постоянно ведут поиск критериев оценки, которые могут дать прогностическую характеристику воспроизводительной функции потенциальных производителей. В данной работе был проведен опыт по получению и оценке спермы от ремонтных бычков голштинской породы в постпубертатный период (n=10). Взятие спермы производилось трижды у бычков в возрасте 11 и 12 месяцев методами электроэякуляции и трансректального массажа. Установлены индивидуальные особенности бычков по выраженности половых рефлексов и качеству полученных эякулятов. Выявлены бычки (группа 1, n=5), у которых имелся положительный ответ на проводимые манипуляции. От них было получено 13 эякулятов, из них 12 пригодных для исследования. От других бычков (группа 2, n=5), с неудовлетворительным ответом, получено 10 эякулятов, из которых 4 - секрет (с концентрацией менее 100 млн/мл). Концентрация сперматозоидов в эякуляте у бычков 1 группы составила 380,62 млн/мл и была выше в сравнении с показателями у бычков во 2 группе - 210,31 млн/мл ($p<0,05$),

общая подвижность составила 72,64%, прогрессивная подвижность – 66,79% ($p<0,01$), доля жизнеспособных клеток – 75,27%, сперматозоидов с нормальной морфологией было 83,45% ($p<0,05$). Исследования показали, что получение спермы от ремонтных бычков, до постановки на племпредприятие, позволяет дать предварительную оценку их репродуктивным качествам, а также выявить самцов, неспособных к производству качественной спермопродукции.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Ранняя оценка племенной ценности быка-производителя является одним из условий повышения эффективности селекции в мясном и молочном скотоводстве. Этому способствует широкое внедрение геномной оценки животных по продуктивным признакам [1,2,3]. Однако, если результаты геномной оценки можно получить даже в неонатальном возрасте, то данные о собственной фертильности производителей получают по достижению ими возраста физиологической зрелости [2,4,5]. В зависимости от породы она наступает в 1,5-2 года. По данным Barth A. D., 2018, в реальных условиях каждый пятый производитель не соответствует по показателям спермы и физическому состоянию, а каждый четвертый - по оплодотворяющей способности спермы. В зарубежной практике для оценки племенной ценности, физического развития, здоровья и качества спермопродукции разработан комплекс BBSEs (bull breeding soundness evaluation) – оценка племенной ценности быков [4,6]. Для получения спермы от ремонтных бычков в условиях производственного комплекса оптимальными являются трансректальный массаж ампул семявыносящих протоков (ТРМ) и электроэякуляция (ЭЭ). Отмечается, что ТРМ подходит для быков старше одного года в виду их физиологического развития, имеет хорошую результативность у самцов со спокойным темпераментом, но в сравнении с ЭЭ этот процесс получения спермы более трудоемкий [6,7,8]. ЭЭ позволяет получать сперму от животных в более раннем возрасте, но подходит не всем животным. Тем не менее, подробно изучены вопросы, связанные с болезненностью этой процедуры для животного, поэтому данный способ получения спермы запрещен в некоторых странах [6,9]. Получение и анализ качества спермы бычков актуально до наступления физиологической зрелости, так как может служить определенным маркером для выявления быков, в первую очередь, неспособных к производству качественной спермопродукции [6,7].

Целью работы было получение и оценка качества спермы ремонтных бычков в постпубертатном возрасте в условиях производственного молочного комплекса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Работу проводили в племенном хозяйстве СПК «Поляны» Выборгского района Ленинградской области. Были подобраны бычки-сверстники голштинской породы (n=10) в возрасте 11 месяцев, здоровые в ветеринарном отношении, не приученные к взятию спермы. В 11 месячном возрасте сперму получали при помощи электроэякулятора (опыт I), в возрасте 12 месяцев – дважды (опыт II и III, с интервалом в 3 дня), методом трансректального массажа ампулы и уретры. При электроэякуляции применяли низкую сакральную эпидуральную анестезию, препарат 2%-ный лидокаин. Использовали электроэякулятор DC100-240V, “Minitube GmbH” (Германия). Подача электроимпульсов осуществлялась в ручном режиме в диапазоне от 5 до 10В. Ответная реакция на импульсное воздействие током отмечалась после 5В. Воздействие импульса проводили по 5-6 сек с интервалом в 5 сек. Отдача спермы начиналась в промежутке от 8 до 10В. Процесс получения спермы обоими методами (ЭЭ и ТРМ) занимал не более 4 минут на быка. Эякуляты собирали в мерный стакан объемом 15 мл, подогретый до 38ºС. Всего было получено 23 образца спермы. Оценку проводили

непосредственно в хозяйстве. Полученный эякулят предварительно оценивали визуально по подвижности, концентрации, затем разбавляли в соотношении 1:1. Объем эякулята измеряли мерным стаканом. Концентрацию определяли на фотометре SDM6 “Minitube” (Германия), общую и прогрессивную подвижность определяли глазомерным способом под микроскопом Микромед С11 (Россия). К секрету относили образцы с концентрацией сперматозоидов менее 100 млн/мл. В лаборатории ВНИИГРЖ проводили морфологическую оценку методом окраски фиксированных мазков по протоколу Дифф-Квик (НПФ Абрис+, Россия). Просматривали при увеличении х1000 под масляной иммерсией, учитывая не менее 200 клеток в каждом образце. Использовали микроскоп Motic BA 410 (Китай). Жизнеспособность клеток (целостность плазматических мембран) оценивали по методу Блюма. Образец нативной спермы смешивали с красителем (эозин - негрозин) в соотношении 1:1, готовили мазки и оценивали под иммерсией при увеличении х1000 (неповрежденные клетки белые, поврежденные сперматозоиды - розовые или красные). Полученные данные обрабатывались методом однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA) программа SigmaPlot 15 (SystatSoftware, Inc., США) и выражали как средние значения ± стандартные ошибки (Mean ± SEM). Для оценки сравниваемых показателей в случае их нормального распределения, которое определяли с помощью критерия Шапиро — Уилка, использовали критерий Холма — Сидака, при его отсутствии — критерий Данна. Был принят уровень значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

По итогам трех опытов от бычков были получены образцы спермопродукции с большой индивидуальной изменчивостью по качественным и количественным показателям. По результатам оценки за весь период исследования животных разделили на две группы по показателям качества эякулятов. В первую группу отнесли бычков (n=5), от которых получено два и более эякулятов, пригодных для оценки, во вторую группу бычков (n=5), от которых получено один и менее эякулятов, пригодных для оценки, или секрет. Пригодными для оценки считали образцы с концентрацией сперматозоидов не менее 200 млн/мл и активностью выше 4 баллов. Результаты представлены в таблице 1.

В опыте I получили сперму электроэякуляцией только у 5 бычков (3 головы из 1 группы и 2 головы из 2 группы). У других животных ответа на манипуляции с ЭЭ и ТРМ не было. От бычков 2 группы были получены секрет и сперма с низкой концентрацией сперматозоидов (200 и менее млн/мл) и активностью менее 2 баллов (не подлежали анализу, в таблице не представлены). Эрекция наблюдалась у троих бычков, дискомфорта у животных не отмечено. Реакция быка на электрический импульс была индивидуальной. Усенбеков и др. (2019) отмечают, что у некоторых животных не наблюдается эрекция, у других - выделяется только секрет придаточных желез, а эякуляция происходила при верхних значениях напряжения импульса 14-16В [10].

У быков 1 группы объем эякулятов в данном опыте варьировал от 7 до 11 мл и включал как собственно сперму, так и секрет половых желез. Концентрация сперматозоидов варьировала в пределах 150-800 млн/мл. Общая подвижность составила 67,36%, прогрессивная - 63,17%, доля жизнеспособных клеток - 72,35%, сперматозоидов с нормальной морфологией было 56,83%, отмечено 15,51% незрелых сперматозоидов (наличие проксимальных капель).

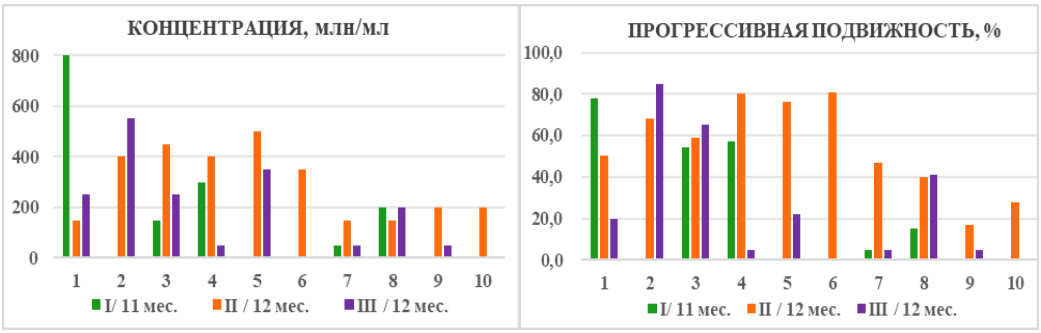
В опытах II и III (возраст бычков 12 месяцев) получали сперму методом трансректального массажа, без применения электроэякулятора. Получали только сперму (первичный секрет не брали), средние объемы эякулята были в пределах 4,52...5,21 мл. Эрекция наблюдалась в I опыте у троих, во II – у двоих животных. Другие авторы (Palmer W. et al., 2005, Persson Y., 2007) отмечают, что объ-

ем полученной спермы при ЭЭ ниже, чем при ТРМ, поскольку массаж может чаще вызвать непроизвольное выделение мочи, секрета ампул. Необходимо учитывать этот фактор и при определении концентрации сперматозоидов в эякуляте [8,10]. По данным Sylla L. et al.,2015, концентрация сперматозоидов в эякуляте от ТРМ и ЭЭ варьирует в пределах 200-400 млн/мл [6].

В опыте II от всех 10 бычков были получены эякуляты, пригодные для анализа. Бычки 1 группы достоверно превосходили сверстников из 2 группы по концентрации ($p<0,05$), по количеству сперматозоидов с нормальной морфологией ($p<0,05$), различия по общей и прогрессивной подвижности спермы были недостоверны. Основными нарушениями морфологии были повреждения акросом (сморщивание, отсутствие), хвостов, отсутствие хвоста.

В опыте III (через три дня) качественная характеристика спермы была ниже, чем в предыдущем опыте. В образцах от быков 1 группы при сходных характеристиках концентрации сперматозоидов 383,00 млн/мл против 380,62 млн/мл в предыдущем опыте и общей подвижности 71,78% против 72,64%, наблюдалось снижение прогрессивной подвижности 42,36% против 66,79%, соответственно. Во 2 группе только один бык дал эякулят с концентрацией 200 млн/мл и прогрессивной подвижностью 40 %, от двоих бычков был получен секрет, а от двоих не получили спермопродукции. Полученные данные подтверждают исследования других авторов о том, что с молодыми бычками, не приученными к получению спермы, необходимо проводить данные манипуляции не чаще 1 раза в неделю [5,11,12].

Romano J.E. et al., 2021, установлено, что ТРМ больше подходит для быков в возрасте старше 12 месяцев, особенно тех, которые приучены отдавать сперму на искусственную вагину. В некоторых случаях, когда животные приучены к постоянному общению с обслуживающим персоналом или техниками по взятию спермы, различия между эякулятами, полученными обоими методами, несущественны [4,7,10]. Однако Barth A. D., 2018, Sylla L. et al., 2015, Persson Y., 2007 отмечают, что качество спермы от ТРМ уступает таковой от ЭЭ, поскольку процесс отдачи в первом случае происходит медленнее, каплями и эякулят дольше контактирует с окружающей средой. Отмечено, что в образцах, полученных ТРМ может содержаться больше незрелых сперматозоидов с проксимальной каплей [6,9].



1a **1b**

I, II, III - опыт; Быки № 1-5 - 1 группа, № 6-10 – 2 группа

Рисунок 1– Характеристика эякулята бычков: 1a - по концентрации сперматозоидов в эякуляте; 1b - по прогрессивной подвижности.

Таблица 1 – Показатели качества эякулятов бычков по группам (1 группа n=5, 2 группа n=5)

Опыт	I (в возрасте 11 месяцев)	II (в возрасте 12месяцев)		III (в возрасте 12 месяцев)	
Группа	1	1	2	1	2
Число эякулятов / из них секретов	3/0	5/ 0	5 / 0	5 / 1	3 / 2
Объем, мл	8,72±1,86	5,21±0,41	4,77±0,62	5,35±0,51	4,52±0,28
Концентрация, млн/мл	416,71±152,44	380,62±60,4[a]	210,31±36,7[b]	383,00±74,5	115,26±47,2
Общая подвижность, %	67,36±5,87	72,64±6,36	48,36±4,82	71,78±6,19	43,43±5,27
Прогрессивная подвижность, %	63,17±5,21	66,79±5,49	42,87±4,86	42,36±5,67	26,87±9,16
Жизнеспособность, %	72,35±8,91	75,27±8,62	70,38±9,21	--	--
Сперматозоидов с нормальной морфологией, %	56,83±3,26	83,45±3,85[a]	58,82±3,77[b]	78,34±4,24	70,16±5,34
Повреждения акросом, %	15,46±2,93	12,22±3,16	32,15±9,75	9,23±2,18[b]	8,13±1,85
Повреждения хвостов, %	13,70±3,68	13,94±3,72	11,81±3,22	11,63±3,02	18,14±3,26
Проксимальная капля, %	15,51±6,54	Менее 3,00	Менее 3,00	Менее 3,00	Менее 3,00

Примечание: abP<0,05.

На рисунке 1 показана индивидуальная характеристика спермы бычков в опытах I, II и III по показателям концентрации спермы и прогрессивной подвижности. По данным оценки BBSE, минимальные требования, предъявляемые к качеству спермы - 40-59% прогрессивная подвижность, концентрация более 250 млн/мл и более 70% сперматозоидов с нормальной морфологией [3,6]. Из 23 проанализированных нами образцов 10 соответствовали минимальным требованиям (43,4%) и только от одного быка - №1 был получен эякулят, соответствующий требованиям ГОСТ (концентрация 800 млн/мл и активность 7,5 баллов).

Проведенные исследования (относительно быков из 1 группы) не выявили достоверных отличий по качественной и морфологической оценке спермопродукции, полученной методами ЭЭ и ТРМ. В дальнейшем планируется продолжить сравнительные исследования на большем поголовье и в различные возрастные периоды.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В возрасте 11-12 месяцев от голштинских бычков, не приученных к отдаче спермы, в условиях хозяйства, возможно с помощью ЭЭ и ТРМ получение эякулятов, пригодных для анализа. После 12 месячного возраста получение спермы возможно без применения электроэякуляции. Не получено достоверных различий между качественными и морфологическими характеристиками спермы при использовании разных методов получения. Полученная прогностическая оценка качества спермы может быть использована при отборе потенциальных бычков-производителей на племенные предприятия.

THE EXPERIENCE OF SEMEN COLLECTING AND ASSESSEMENT FROM BULLS AT THE POST-PUBERTY PERIOD

Turlova J.G.* **–** Ph.D. biological sciences, laboratory of developmental biology (ORCHID 0000-0001-9845-1421); **Nikitkina E.V**. **–** Ph.D. biological sciences, laboratory of developmental biology (ORCHID 0000-0002-8496-5277); **Elokhin E.A. –** PhD student; **Bogdanova S.S. –** laboratory research assistant, laboratory of developmental biology (ORCID 0009-0007-9411-9887)

Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding — Branch of the L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry

* jturlova@gmail.com

Funding: *The work was carried out with the financial support of the Ministry of Education and Science, project № 121052600354-7.*

ABSTRACT

Modern methods for assessing the bulls breeding value allow for the prediction of their offspring's performance early in life. However, a bull's own reproductive performance can only be assessed after reaching physiological maturity at 1.5 to 2 years. Evaluation methods and markers that can objectively characterize the reproductive performance of potential breeding bulls are constantly being sought. Three experiments were conducted to collect semen from 11- to 12-month-old bulls (n=10) using electroejaculation and transrectal massage. Individual characteristics of the bulls were identified**.** In the group with a positive response to the manipulations, 13 ejaculates were collected, from the group with an unsatisfactory response **–** 9 (4 of which were secretions with a concentration less than 100 million / ml). The concentration of spermatozoa in the ejaculate of the group 1 bulls was 380.6 million / ml and was higher in comparison with the indicators in the group 2 bulls (P<0.05), the total motility was 72.6% (P < 0.01), respectively, progressive motility **–** 66,7% (P < 0.01), the proportion of viable cells **–** 75.2%, spermatozoa with normal morphology were 83.4% (P < 0.001). Research has shown that systematic training of replacement bulls to produce semen post-puberty can allow for an assessment of their reproductive potential. This predictive assessment may be necessary for selecting candidate bulls for breeding operations.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Харжау А. Использование методов генетической оценки и геномной селекции в разведении крупного рогатого скота / А. Харжау, А.А. Сермягин //Успехи наук о животных. — 2025. — №2. — С.34 -50. https://doi.org/10.25687/3034-493X.2025.3.2.003
2. Weigel K. Genomic selection in dairy cattle: impact and contribution to the improvement of bovine fertility / K. Weigel, A. Chasco, H. Pacheco, A. Sigdel, F. Guinan, M. Lauber, P. Fricke, F.Peñagaricano // Clinical Theriogenology. – 2024. – Т. 16. http://dx.doi.org/10.58292/CT.v16.10399
3. Яковлев А.Ф. Молекулярные маркеры в повышении воспроизводства молочного скота / А.Ф. Яковлев, К.В. Племяшов // Генетика и разведение животных. —2017. —№4. —С.3-11
4. Barth A. D. The use of bull breeding soundness evaluation to identify subfertile and infertile bulls //Animal. – 2018. – Т. 12. – № 1. – С. 158-164.
5. Елохин Е.А. Анализ качества спермопродукции ремонтных быков молочных пород в разные возрастные периоды / Е.А. Елохин, Ю.Г. Турлова //// Генетика и разведение животных. —2025. —№2. — С.47-54.
6. Sylla L. Effect of semen collection by transrectal massage of accessory sexual glands or artificial vagina on the outcome of breeding soundness examinations of Italian yearling beef bulls / L.Sylla, C.Palombi, G.Stradaioli, A.Vagniluca, M. Monaci // Theriogenology. — 2015. — Т.83. — №5. — P.779-785 https://doi.org/10.1016 /j. theriogenology.2014.11.011
7. Попов И. В. Развернутый обзор применения метода электроэякуляции у раз-

личных видов животных // Иг.В. Попов, П.В. Аксенова, Е.В. Карташова, Е.А. Крыштоп, Ил.В. Попов, Ю.А. Тихменева, А.М. // Ветеринарная патология. – 2020. – №. 3 (73). – С. 3-15. https://doi.org/10.25690/VETPAT.2020.11.99.001
8. Palmer W. Comparison of electroejaculation and transrectal massage for semen collection in range and yearling feedlot beef bulls / W. Palmer, L.F.C. Brito, A.A. Arteaga, L. Söderquist, Y. Persson, A.D. Barth // Animal Reproduction Science. — 2005. — Т.87. — №1–2. — С. 25-31. https://doi.org/10.1016/ j.anireprosci.2004.09.004
9. Kaka U. et al. Do bulls experience pain or stress during electroejaculation? Evidence from electroencephalography, behavioral, hormonal, and metabolite profiling / U. Kaka, N. Y. Degu, P.Kumar, A. A. Abubakar, Y.-M. Goh, M.W. Aslam, K.Ur.R. Bhutto, M.A. Basit, W.S M Qadi, N.M. Misnan, A. Mediani, K.K.Hua //Veterinary World. – 2025. – Т. 18. – №. 4. – С. 763-772.
10. Усенбеков Е. С. Андрологическое исследование быков производителей и оптимальные параметры получения спермы электроэякулятором / Е.С. Усенбеков, М.А. Алиев, Д.М. Бекенов, К.У. Койбагаров, М.М. Шорманова / Научное обеспечение животноводства Сибири. – 2019. – С. 258-261.
11. Breeding Soundness Evaluation of Young Beef Bulls Y.Persson Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science Department of Clinical Sciences. Doctoral thesis Swedish University of Agricultural Sciences ISSN 1652-6880 ISBN 978-91-576-7317-6 © 2007 Uppsala Tryck: SLU Service/Repro, Uppsala 2007 44c.
12. Romano J.E. Effect of fasting prior to electroejaculation on behavioral responses and reproductive parameters in young Simmental bulls / J.E. Romano, M. Gaetano, G. Stradaioli, B. Mislei // Theriogenology. — 2021. — №1. — Т.173. — С.19-22. https://doi.org/10/1016// j.theriogenology.2021.05.019

REFERENSES

1. Kharzhau A., Sermyagin A.A. Genetic evaluation and genomic selection in cattle breeding / Kharzhau A., Sermyagin A.A. // Ernst Journal of Animal Science. — 2025; (2):34-50. (In Russ.) https://doi.org/10.25687/3034-493X.2025.3.2.003
2. Weigel K. Genomic selection in dairy cattle: impact and contribution to the improvement of bovine fertility / K. Weigel, A. Chasco, H. Pacheco, A. Sigdel, F. Guinan, M. Lauber, P. Fricke, F.Peñagaricano // Clinical Theriogenology. – 2024:16. http://dx.doi.org/10.58292/CT.v16.10399
3. Yakovlev A.F. Molecular markers in improving the reproduction of dairy cattle / A.F. Yakovlev, K.V. Plemyashov // Genetics and animal breeding. – 2017:4. :3-11
4. Barth A. D. The use of bull breeding soundness evaluation to identify subfertile and infertile bulls //Animal. – 2018:12 (1):158-164.
5. Elokhin E.A. Analysis of the quality of sperm production of replacement bulls of dairy breeds at different age periods / E.A. Elokhin, Yu.G. Turlova //// Genetics and animal breeding. – 2025:2:47-54. https://doi.org/10.31043/2410-2733-2025-2-47-54
6. Sylla L. Effect of semen collection by transrectal massage of accessory sexual glands or artificial vagina on the outcome of breeding soundness examinations of Italian yearling beef bulls /L.Sylla, C.Palombi, G.Stradaioli, A.Vagniluca, M. Monaci // Theriogenology.—2015:83(5):779-785 https://doi.org/10.1016/j.theriogenology. 2014.11. 011
7. Popov I. V. Electroejaculation: history, physiology and prospects / I. V. Popov, P. V. Aksenova, E. V. Kartashova, E. A. Kryshtop, I. V. Popov, Y. A. Tihmeneva, A. M. Ermakov // Veterinary pathology. — 2020:3(73):3-15. https://doi.org/ 10.25690/ VETPAT. 2020.11.99.001
8. Palmer W. Comparison of electroejaculation and transrectal massage for semen collection in range and yearling feedlot beef bulls / W. Palmer, L.F.C. Brito, A.A. Arteaga, L. Söderquist, Y. Persson, A.D. Barth // Animal Reproduction Science. — 2005:V.87(1–2):.25-31. https://doi.org/10.1016/ j.anireprosci.2004.09.004
9.Kaka U. et al. Do bulls experience pain or

stress during electroejaculation? Evidence from electroencephalography, behavioral, hormonal, and metabolite profiling / U. Kaka, N. Y. Degu, P.Kumar, A. A. Abubakar, Y.-M. Goh, M.W. Aslam, K.Ur.R. Bhutto, M.A. Basit, W.S M Qadi, N.M. Misnan, A. Mediani, K.K.Hua //Veterinary World. – 2025:18(4):763-772.

10. Usenbekov E.S. Andrological research of bulls of producers and optimal parameters of sperm production by an electro-ejaculator / E.S. Usenbekov, M.A. Aliyev, D.M. Bekenov, K.U. Koibagarov, M.M. Shormanova / Scientific support of animal husbandry of Siberia. – 2019. – pp. 258-261.

11. Breeding Soundness Evaluation of Young Beef Bulls Y.Persson Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science Department of Clinical Sciences. Doctoral thesis Swedish University of Agricultural Sciences ISSN 1652-6880 ISBN 978-91-576-7317-6 © 2007 Uppsala Tryck: SLU Service/Repro, Uppsala 2007 44c.

12. Romano J.E. Effect of fasting prior to electroejaculation on behavioral responses and reproductive parameters in young Simmental bulls / J.E. Romano, M. Gaetano, G. Stradaioli, B. Mislei // Theriogenology. — 2021:173(1):19-22. https://doi.org/10/1016//j.theriogenology.2021.05.019

УДК: 619:618.7
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.552

ЭФФЕКТИВНОСТЬ СИНХРОНИЗАЦИИ ОВУЛЯЦИИ В ЛЕЧЕНИИ И ПРОФИЛАКТИКЕ БЕСПЛОДИЯ У КОРОВ

Усевич В.М. [1] * – канд. ветеринар. наук, доц. каф. инфекционной и незаразной патологии (ORCID 0000-0002-538992-77); **Дрозд М.Н.** [1] – ст. препод. каф. инфекционной и незаразной патологии (ORCID 0000-0001-2345-6789); **Баркова А.С.** [2] – д-р ветеринар. наук, доц., зав. каф. производства и экспертизы качества сельскохозяйственной продукции (ORCID 0000-0002-2602-6810*)*

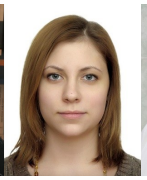
[1] ФГБОУ ВО «Уральский государственный аграрный университет»
[2] ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет»,

* vus5@yandex.ru

Ключевые слова: *коровы, лечение, профилактика, гипофункция яичников, половой цикл, половые гормоны, овуляция.*

Keywords: *cows, treatment, prevention, ovarian hypofunction, sexual cycle, sex hormones, ovulation.*

Поступила: 20.06.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025



РЕФЕРАТ

В статье приведены результаты исследования влияния гонадотропин-рилизинг гормона на восстановление репродуктивной функции яичников у коров при гипофункции яичников. Кроме того, в статье описана эффективность синхронизации овуляции в зависимости от стадии полового цикла. Целью исследования было определить причины эффективности использования гонадотропин-рилизинг гормона для синхронизации овуляции у коров. Задачами исследования было: определить овуляционный ответ на введение гонадотропин-рилизинг гормона в различные периоды полового цикла и при гипофункции яичников, а также изменения гормонального фона при его использовании. Научная новизна: впервые проведены синхронные исследования клинико-гинекологические, ультразвуковые и радиоиммунологические исследования, которые отражают изменения в состоянии яичников и в анализах гормонального фона в крови. Результаты: приведены данные по проявлению овуляции в зависимости от состояния яичников и отдаленные последствия введения гонадотропин-рилизинг гормона, если выбор времени его использования определены ошибочно. При введении гонадотропин-рилизинг гормона самый низкий процент овуляции наблюдается при введении его в фазу функционально активного желтого тела. Максимальный эффект наблюдали в период окончания полового цикла и полной инволюции желтого тела. Отмечен период отсутствия овуляции в середине полового цикла. Описаны изменения гормонального фона в крови коров при введении гонадотропин-рилизинг гормона**,** которые позволяют контролировать процесс овуляции. Отмечена закономерность клинико-гематологических, радиоиммунологических исследований крови на определение гормонального фона и кон-

троль ультразвукового использования яичников в определении состояния фолликулогенеза в яичниках коров с диагнозом гипофункция яичников. Следовательно, при введении гонадотропин-рилизинг гормона эффект овуляции наблюдается при физиологической зрелости структур и сохраненной гормоносинтезирующей функции яичников.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Проблемы в скотоводстве по активизации репродуктивной функции животных остаются актуальными до сегодняшнего дня. Наиболее частой причиной бесплодия у коров является гипофункция яичников. Сам диагноз частично отвечает на вопрос в чем причина данной патологии – это снижение функции органа, воспроизводящего яйцеклетки, без которых невозможна репродукция. Снижение функции, при наличии гоноцитов, признак недостаточного выделения гонадотропных гормонов из гипофиза, что напрямую связано с функцией нервной системы по саморегуляции организма и работы внутренних органов. Это связано с формированием иммунодефицитного состояния организма, на фоне которого стартуют любые патологические состояния любой этиологии. Запуск саморегуляции возможен при использовании адаптогенов или рилизинг – факторов, влияющих непосредственно на гипофиз, а в результате выработку фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и лютеинизирующего гормона (ЛГ), которые и обеспечивают физиологическую функцию яичников.

Иммунодефициты в молочном и мясном скотоводстве возникают под действием длительной стресс – реакции организма. Как известно, кратковременное действие стресса повышает иммунную защиту и естественную резистентность организма, а также адекватную работу всех внутренних органов. Стресс-факторы, действующие длительно, снижают иммунную защиту, естественную резистентность и вызывают снижение функции внутренних органов.

Коровы на предприятиях по получению молока наиболее подвержены действию стрессов (технологического, вакцинального, при недоброкачественном, несбалансированном кормлении – кормового, стресса перегруппировок, шумового, болевого при травмах, стресса от нарушения обмена веществ и др.) и результатом является гипофункция яичников. Кроме того, к гипофункции приводят нарушения обменных процессов в организме коров, перенесенные гестозы в последней половине беременности, патологические роды и послеродовые патологии.

Следовательно, гипофункция яичников – проявление вторичного иммунодефицита любого происхождения. Все это вызывает снижение репродуктивной функции у коров. Длительная гипофункция яичников ведет к ранней выбраковке коров, снижая продолжительность продуктивного долголетия.

До настоящего времени проблемы бесплодия животных остаются актуальной проблемой практической ветеринарии. Своевременное обеспечение беременности животных повышает экономическую эффективность скотоводства в получении молочной и мясной продукции.

Современное животноводство до настоящего времени испытывает дефицит средств, обеспечивающих максимальную эффективность на стимуляцию синхронизации охоты и овуляции у животных. На сегодня для этих целей используется гонадотропин-рилизинг гормон (ГнРГ) как монотерапия, так и в сочетании с препаратами простагландина–Ф2 альфа (ПГФ–2α).

При использовании только гонадотропин-рилизинг гормона эффективность составляет 55-65% и зависит от правильности определения времени стимуляции, от стадии полового цикла, уровня гормонального фона, от состояния самих яичников, чаще всего это гипофункция яичников, и уровня естественной резистентности.

При использовании комплексного использования ГнРГ и ПГФ–2α преиму-

щественно в после отельный период способствует максимальной инволюции желтого тела беременности и способствует активному росту фолликулов. Применение ГнРГ вызывает овуляцию, готовых к овуляции фолликулов, остальные подвергаются атрезии. При этой схеме синхронизации, процент овуляций и плодотворного осеменения повышается до 85%, но по-прежнему не достигает стопроцентного эффекта. Причины этого до настоящего времени до конца не определены. [1-15]

Поиск ответа на эти вопросы позволит повысить эффективность борьбы с бесплодием в скотоводстве, повысить продолжительность продуктивного долголетия, снизить процент преждевременной выбраковки коров, и, соответственно, повысить экономическую эффективность скотоводства.

В связи с этим, целью исследования было определить причины эффективности использования ГнРГ для синхронизации овуляции у коров.

Для достижения поставленной цели были поставлены следующие задачи:

- определить овуляционный ответ на введение ГнРГ в различные периоды полового цикла и при гипофункции яичников;
- изменения гормонального фона при использовании ГнРГ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводили на коровах симментальской породы средний возраст 6 лет, массой тела 450-550 кг в одном из молочно-товарных хозяйств Воронежской области. Для исследования подбирались коровы с сохраненным половым циклом и с гипофункцией яичников. Летом коровы содержались в летних лагерях, а в зимнестойловый период в типовых помещениях. Прогулками пользовались ежедневно в загонах по 3 часа в сутки. О степени распространения акушерско-гинекологических болезней судили на основании учета заболеваемости 600 коров. Анализ результатов исследования проведен с учетом характера послеродового периода. Диагноз на гипофункцию яичников устанавливали на основании анамнестических данных, что включало отсутствие регулярных половых циклов после отела более чем 35 дней, по датам последнего отела и осеменения, и двукратного клинико-гинекологического исследования с интервалом 7-10 дней. Также обращали внимание и на состояние матки: отсутствие беременности и патологических ее изменений (эндометрит, субинволюция матки, и другие). Для подтверждения диагноза гипофункция яичников проводили УЗ исследование для контроля размеров фолликулов. Все данные заносили в журнал исследований по каждому животному, после чего животных разбивали на группы и проводили экспериментальные исследования.

Для проведения экспериментальных исследований животных разделили на 6 групп:

группа – 15 голов – контрольные животные в динамике полового цикла 20, 8, 16 дни полового цикла;

группа – 15 голов – с гипофункцией яичников – отрицательный контроль;

3 группа – 24 головы – коровы на 20 день полового цикла, на фоне крупных фолликулов:

группа – 24 головы – на 8 день полового цикла, на фоне функционирующего желтого тела;

группа – 28 голов – на 16 день полового цикла, в период инволюции желтого тела;

группа – 20 голов – коровы с гипофункцией яичников.

ГнРГ (сурфагон) коровам 3-6 групп вводили внутримышечно в дозе 50 мкг однократно. После введения препарата подопытные животные находились под постоянным клинико-гинекологическим наблюдением, визуально определяли стадию возбуждения полового цикла и время осеменения. Одновременно у трех животных из группы брали кровь для радиоиммунологического определения гормонального фона (на прогестерон и эстрадиол-17 бета) в динамике полового

цикла и при гипофункции яичников. Одновременно перед введением ГнРГ проводили УЗИ яичников.

Лабораторные исследования проводились в лицензированной лаборатории ФГБНУ ВНИВИПФиТ. Кровь от животных получали из яремной вены перед и через 24, 48 часов, и на 5, 10, 15 дни исследования. Всего исследовано 16 проб крови от 27 коров. В Качестве антикоагулянта использовали гепарин, который добавляли в пробирки из расчета 250 ИЕ на 10 мл крови. Пробы центрифугировали в течение 30 минут при 3000 об/мин., получали плазму, замораживали и хранили до исследования в холодильнике при температуре минус 15° С.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

По результатам клинических наблюдений и ректальных исследований после введения ГнРГ (сурфагона) овуляция у коров разных групп произошла:

- в первой группе у 100% животных в начале полового цикла;

- во второй группе – овуляция отсутствовала;

- в третьей группе – у 100% животных из группы в первые 3 дня, а у 5,3% на девятый день исследования и у 5,3% на восемнадцатый день исследования повторно;

- в четвертой группе – у 42,9% животных в первые три дня исследования, но диаметр овулировавших фолликулов был 5000-7000 мкм, до девятого дня исследования – у 11,8%, на восемнадцатый день исследования с началом нового полового цикла у 5,9% животных из группы и позднее у всех остальных животных из группы. Вероятно, низкий процент овуляций связан с недостаточным размером и зрелостью фолликулов, а также высоким уровнем прогестерона, который снижает эффективность ФСГ;

- в пятой группе – у 83,3% животных в течение первых трех дней исследования, к шестому дню – у 9,1%, к девятому – у 4,5% животных, в целом, к девятому дню овуляция произошла у всех животных из группы; к 15-18 дням исследования повторно овуляция произошла у 21,6% животных из группы. До девятого дня наблюдений овуляция произошла при наличии адекватного гормонального фона и наличия готовых к овуляции фолликулов;

- в шестой группе в первые три дня исследования у 75% животных, в последующие дни исследования – у 25% животных по 6,25% в течение всего периода исследования, что согласуется с клинико-гинекологическими методами исследования. В группе с гипофункцией яичников высокий ответ на стимуляцию гипофиза ГнРГ и отсроченный эффект, который развивается как ответная реакция на стимуляцию всей системы саморегуляции, аутовосстановления и коррекции иммунодефицитного состояния, на фоне которого развивается гипофункция яичников. Результаты УЗ исследования коровы с гипофункцией яичников (рис. 1).

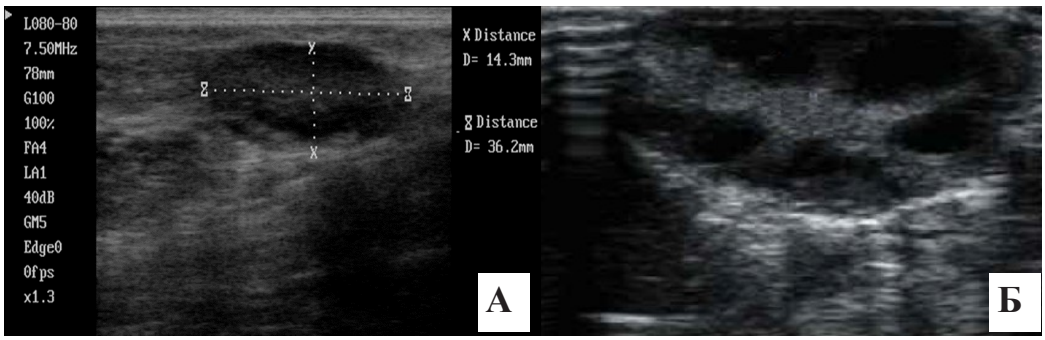


Рисунок 1 – УЗИ яичника коровы с гипофункцией яичников (зонд 7,5 МГц, глубина 2,5 см). Размеры фолликулов не более 4 мм. а – размеры яичника, б – размеры фолликулов.

Таблица 1 – Качественная оценка действия ГнРГ на овуляцию в различные сроки полового цикла в %

	День исследования, после введения ГнРГ Количество животных, гол.	3	6	9	12	15	18
1	15	100	–	–	–	–	–
2	15	–	–	–	–	–	–
3	24	100	–	5,3	–	–	5,3
4	24	42,9	5,9	5,9	–	–	5,9
5	28	83,3	9,1	4,5	–	13,6	18
6	20	75	6,25	6,25	–	6,25	6,25

Таблица 2 – Концентрация эстрадиола-17 бета в крови коров после введения ГнРГ в динамике полового цикла, пг/мл

№ групп-пы	До введения	через 24 ч.	через 48 ч.	на 5-й день
1-к	36,8±2,4	39,9±2,8	17,3±0,98	22,0±1,0
3-о	29,13±1,51	32,0±1,0	17,43±2,58	24,77±2,76
1-к	20,5±1,25	21,0±1,34	21,5±1,0	23,9±1,12
4-о	26,43±2,83	14,25±2,1**	21,53±2,78	27,37±2,57
1-к	24,00±2,1	24,6±2,0	29,7±1,98	39,3±2,8
5-о	25,53±3,08	28,43±2,52	39,3±2,88**	22,5±2,3***
2-к	18,4±2,05	20,9±1,98	21,0±2,8	25,0±2,05
6-о	18,24±2,98	26,53±2,6*	25,33±2,33*	28,00±2,36*

** P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001*

Результаты исследований по проявлению овуляции представлены в таблица 1.

Результаты контроля овуляции показали, что овуляция происходит лишь при наличии зрелых фолликулов, имеющих полость, содержащую фолликулярную жидкость и зрелую яйцеклетку.

Параллельно с клинико – гинекологическими исследованиями проводился контроль изменений гормонального фона, как у животных контрольных групп, так и у животных опытных групп до введения ГнРГ, через 24 и 48 часов после введения и на пятый день после введения препарата.

В таблице 2 представлены результаты исследования уровня эстрадиола-17 бета после введения ГнРГ у коров в динамике полового цикла. Из таблицы 2 видно, что уровень эстрадиола-17 бета у животных третьей группы составил в исходном состоянии 29,13±1,51пг/мл, через 24 часа отмечалось увеличение концентрации до 32,0±1,0 пг/мл, через 48 часов концентрация эстрадиола 17-бета снизилась приблизительно в 2 раза (17,43±2,58 пг/мл), а к пятому дню исследования увеличилась до 24,77±2,76 пг/мл.

Такое изменение концентрации эстрадиола соответствует овуляции через 24 часа после введения ГнРГ.

В четвертой группе животных уровень эстрадиола составил 26,43±2,83 пг/мл перед введением препарата, через 24 часа концентрация эстрадиола снизилась и составила 14,23±2,1 пг/мл, через 48 часов поднялась до 21,53±2,78 пг/мл, а к пятому дню исследования – до 27,37±2,57 пг/мл.

У животных пятой группы концентрация эстрадиола-17 бета перед введением составляла 25,53±3,08 пг/мл, через 24 часа – 28,43±2,52 пг/мл, а через 48 часов – 39,3±2,88 пг/мл и к пятому дню исследо-

вания снизилась до 22,5±2,3 пг/мл.

Концентрация эстрадиола у коров с гипофункцией яичников (6 группа) перед введением препарата составляла 18,24±2,98 пг/мл, а через 24 часа после введения ГнРГ 26,53±2,6 пг/мл и изменялась незначительно (рис. 2).

Овуляционный эффект и проявление феноменов стадии возбуждения полового цикла после введения ГнРГ отмечали у коров, которым препарат вводили на фоне крупных фолликулов и инволюции желтого тела, а также у коров с гипофункцией яичников. Следует отметить, что охота у животных с гипофункцией яичников протекает «тихо», без ярко выраженных клинических проявлений феноменов стадии возбуждения полового цикла, что согласуется с морфологическими данными, вагинальными и ректальными исследованиями (выделение слизи из открытой шейки матки, на месте овулировавшего фолликула пальпируется воронкообразное углубление тестоватой консистенции, в то время как сам яичник упругой консистенции).

В таблице 3 представлены результаты исследования уровня прогестерона у коров после введения ГнРГ в динамике полового цикла. По данным таблицы 3 видно, что при изучении гормонального фона в крови коров до и после введения ГнРГ отмечено, что при его использовании в период охоты (3 группа), на фоне крупных фолликулов базальная концентрация прогестерона составляет 1,33±0,21 нг/мл. Через 24 часа она снизилась в 2 раза до 0,69±0,06 нг/мл, а через 48 часов повышалась до 2,27±0,27 нг/мл и к пятому дню исследования – 2,76±0,28 нг/мл, что свидетельствует о развитии функционально активного желтого тела в яичниках.

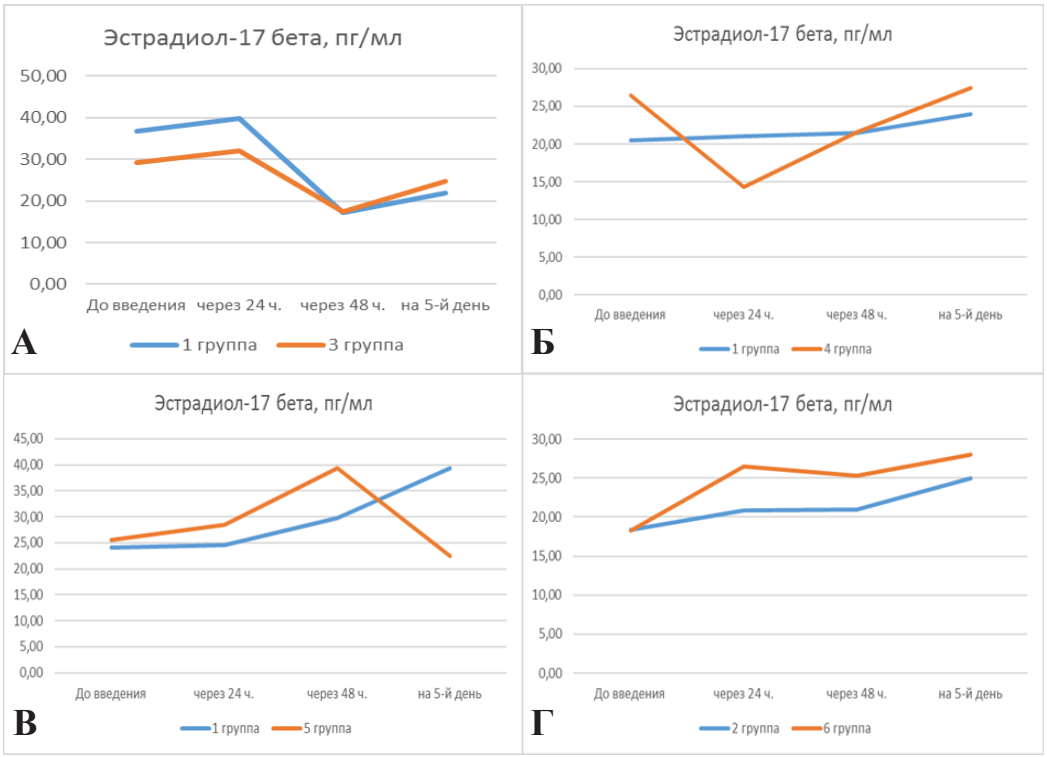


Рисунок 2 – Изменения концентрации эстрадиола-17 бета у коров по группам в динамике полового цикла после введения ГнРГ. а – 1 и 3 группы; б – 1 и 4 группы; в – 1 и 5 группы; г – 2 и 6 группы.

Таблица 3- Концентрация прогестерона в крови коров после введения ГнРГ в динамике полового цикла, нг/мл

№ груп-пы	До введения	через 24 ч.	через 48 ч.	на 5-й день
1-к	0,95±0,1	0,74±0,09	0,37±0,05	2,6±0,32
3-о	1,33±0,21	0,69±0,06	2,27±0,27**	2,76±0,28
1-к	3,0±0,32	2,88±0,26	2,76±0,18	2,18±0,2
4-о	3,02±0,41	2,91±0,41	3,16±0,29*	3,16±0,16**
1-к	2,07±0,25	1,96±0,32	1,2±0,18	0,90±0,1
5-о	1,88±0,42	1,65±0,17	0,81±0,31	2,47±0,49**
2-к	0,53±0,08	0,49±0,06	0,45±0,03	0,50±0,07
6-о	0,52±0,02	0,8±0,27	0,85±0,19*	2,26±0,04**

*Примечание: * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001.*

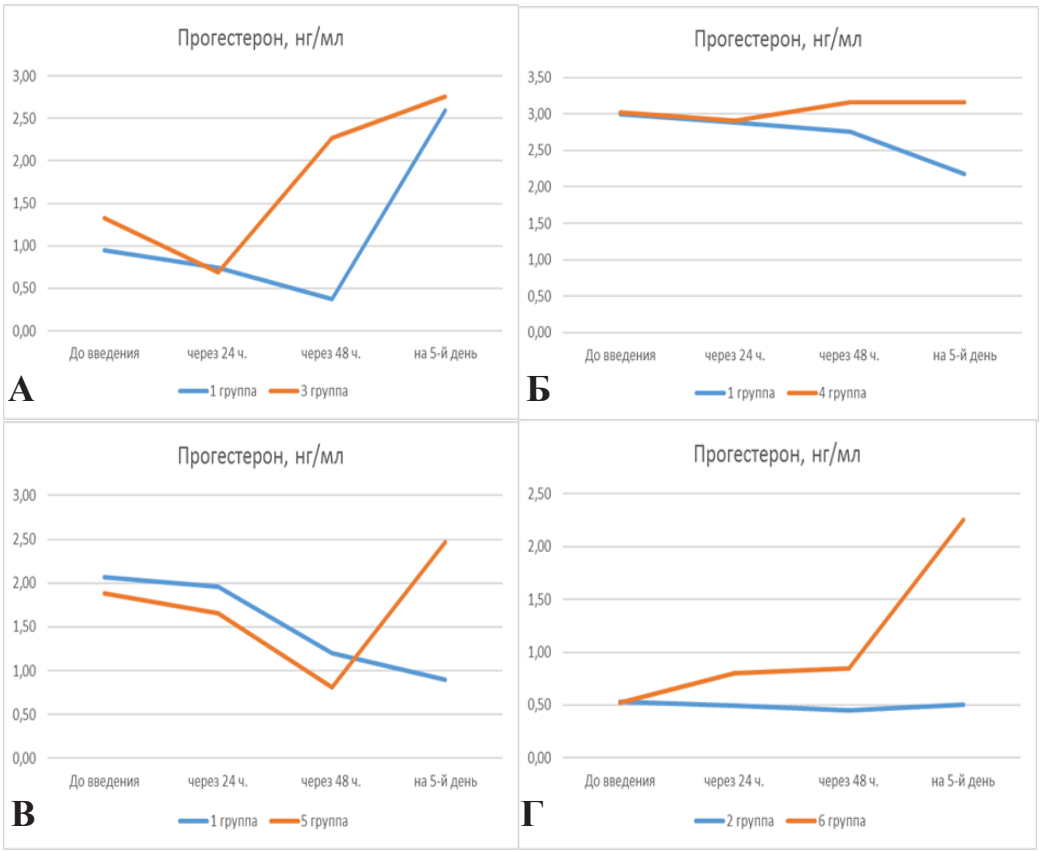


Рисунок 3 – Изменения концентрации прогестерона у коров по группам в динамике полового цикла после введения ГнРГ. а – 1 и 3 группы; б – 1 и 4 группы; в – 1 и 5 группы; г – 2 и 6 группы.

При введении ГнРГ на фоне функционирования желтого тела полового цикла (4 группа) концентрация прогестерона снизилась с 3,02±0,41 нг/мл на 0,11 нг/мл через 24 часа, а через 48 часов вернулась к исходному уровню и держалась до пятого дня исследования на уровне 3,16±0,16 нг/мл, что свидетельствует об удлинении периода функционирования прогестерон-синтезирующих структур – желтого тела.

При введении ГнРГ на фоне инволюции желтого тела полового цикла (5 группа) концентрация прогестерона с 1,88±0,42 нг/мл через 24 часа снижается на 0,23 нг/мл, после двухчасового пика и через 48 часов до 0,81±0,31 нг/мл (приблизительно в 2 раза). А к пятому дню исследования концентрация прогестерона увеличилась до 2,47±0,49 нг/мл, что свидетельствует о формировании нового функционально активного желтого тела.

Перед введением ГнРГ животным с гипофункцией яичников (6 группа) уровень прогестерона был 0,52±0,02 нг/мл и оставалась на низком уровне (0,8±0,27 – 0,85±0,19 нг/мл) до 2-х суток, а к пятому дню исследования концентрация прогестерона увеличилась до 2,36±0,64 нг/мл, что свидетельствует о формировании функционально активного желтого тела (рис. 3).

На рисунках 2 и 3 хорошо виден овуляционный эффект, который проявляется в течение 48 часов после введения ГнРГ. Несмотря на то, что яичники не являются органом мишенью для ГнРГ, происходит запуск механизма саморегуляции функции органов репродуктивной системы. После введения гонадотропин рилизинг гормона, который запускает функцию гипофиза и за счет эндогенных фолликулостимулирующего (ФСГ) и лютеинизирующего (ЛГ) гормонов происходит индуцированная овуляция у животных, находящихся в преовуляторной фазе и в стадию инволюции желтого тела. У животных в стадии функциональной активности желтого тела овуляция наблюдается, только при наличии полостных фолликулов и недостаточного уровня прогестерона, выделяемого лютеоцитами желтого тела, что способствует повышению уровня прогестерона.

Учитывая результаты исследования необходимо максимально точно определять состояние яичников на момент проведения синхронизации охоты и овуляции, для синхнонизации отелов. Проведение синхронизации овуляции у здоровых животных без изменения функции гонад, и стимуляции овуляции при гипофункции яичников требует, как контроля гормонального фона, клинико-гинекологических исследований, так и ультразвукового контроля состояния яичников.

ВЫВОДЫ / CONCLUSIONS

Исследования гормонального фона в крови коров, подвергнутых исследованиям, показали, что при введении ГнРГ изменения в концентрации гормонов, выделяемых яичниками, соответствует морфологическим изменениям в яичниках, определяемых ректальными исследованиями. Для повышения эффективности искусственного осеменения необходим контроль овуляции, т.к. при гипофункции яичников овуляция может протекать без ярко выраженных признаков возбуждения. Сложнее всего выбор времени применения схемы стимуляции овуляции у животных с гипофункцией яичников, т.к. необходимым условием эффективной стимуляции является наличие полостных фолликулов, но без определенного навыка ректальной пальпации и определения наличия фолликулов, необходима визуальная диагностика с использованием УЗИ, в настоящее время это один из максимально информативных неинвазивных методов исследования. Стимуляция овуляций при гипофункции яичников эффективна, если период после отела до последующего осеменения не превышает 6 месяцев, т.к. при длительной дисфункции яичников, сопровождающейся ановуляцией, происходят процессы склерозирования корковой зоны яичников.

В результате анализа полученных данных можно сделать следующие выводы:

После введения ГнРГ (сурфагона) в яичниках преобладают процессы развития фолликулов над процессами дистрофии и атрезии, но в период овуляции и расцвета желтого тела процессы дистрофии прогрессируют, что обеспечивает оптимальный гормональный фон в крови коров, который создает благоприятные условия для оплодотворения и нидации зиготы.

При гипофункции яичников введение ГнРГ (сурфагона) не оказывает прямого влияния на фолликулогенез, но под действием выделившегося из гипофиза ФСГ активизируется созревание яйцеклеток и рост фолликулов. После введения ГнРГ (сурфагона) на фоне гипофункции яичников у 75% коров овуляция происходит в среднем через 1,75 дня (42 часа) при наличии фолликулов. Часто овуляция происходит при отсутствии феноменов стадии возбуждения полового цикла. Поскольку овуляция наступает ещё и в отдаленные сроки после применения ГнРГ, то осеменение целесообразно проводить при контроле гормонального фона или по результату УЗ-исследования яичников на рост и созревание фолликулов, что позволит повысить эффективность искусственного осеменения.

Применение только ГнРГ (сурфагона) при гипофункции яичников сокращает период до оплодотворения по сравнению с контрольной группой животных на 13,5 дней, а индекс осеменения – на 0,25. Для синхронизации полового цикла наиболее целесообразно введение ГнРГ (сурфагона) на фоне крупных полостных фолликулов и инволюции желтого тела. Применение ГнРГ (сурфагона) должно основываться на анамнезе и определении функционального состояния яичников (отсутствие и инволюция желтого тела, наличие фолликулов). Для повышения эффективности используемых в хозяйстве схем с применением ГнРГ (сурфагона) необходим контроль овуляции или по уровню гормонального фона в крови коров (эстрадиола-17 бета и прогестерона), или по результатам УЗ исследования яичников.

THE EFFECTIVENESS OF OVULATION SYNCHRONIZATION IN THE TREATMENT AND PREVENTION OF INFERTILITY IN COWS

Usevich V.M. [1] * – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Infectious and Non-Infectious Pathology (ORCID 0000-0002-538992-77); **Drozd M.N.** [1] – Senior Lecturer of the Department of Infectious and Non-Infectious Pathology (ORCID 0000-0001-2345-6789); **Barkova A.S.** [2] – Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Production and Quality Expertise of Agricultural Products (ORCID 0000-0002-2602-6810)

[1] Ural State Agrarian University, Yekaterinburg, Russia

[2] Kaliningrad State Technical University, Kaliningrad, Russia

* vus5@yandex.ru

ABSTRACT

The article presents the results of a study of the effect of gonadotropin-releasing hormone on the restoration of ovarian reproductive function in cows with ovarian hypofunction. In addition, the article describes the effectiveness of ovulation synchronization depending on the stage of the sexual cycle. The aim of the study was to determine the reasons for the effectiveness of using gonadotropin-releasing hormone to synchronize ovulation in cows. The objectives of the study were to determine the ovulatory response to the administration of gonadotropin -releasing hormone during various periods of the sexual cycle and during ovarian hypofunction, as well as hormonal changes during its use. Scientific novelty: for the first time, synchronous clinical and gynecological, ultrasound and radioimmunological studies have been conducted, which reflect changes in the state of the ovaries and in blood hormonal analyses. Results: data on the manifestation of ovulation depending on the state of the ovaries and the long-term consequences of the administration of gonadotropin-releasing hormone, if the timing of its use is determined incorrectly, are present-

ed. With the introduction of gonadotropin-releasing hormone, the lowest percentage of ovulation is observed when it is introduced into the phase of a functionally active corpus luteum. The maximum effect was observed during the end of the sexual cycle and complete involution of the corpus luteum. There was a period of absence of ovulation in the middle of the sexual cycle. Changes in the hormonal background in the blood of cows with the introduction of gonadotropin-releasing hormone, which allow controlling the ovulation process, are described. The regularity of clinical, hematological, and radioimmunological blood tests to determine the hormonal background and control the ultrasound use of the ovaries in determining the state of folliculogenesis in the ovaries of cows with a diagnosis of ovarian hypofunction was noted. Consequently, with the introduction of gonadotropin-releasing hormone, the effect of ovulation is observed with the physiological maturity of the structures and the preserved hormone-synthesizing function of the ovaries.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Донник И.М., Чеченихина О.С., Смирнова Е.С. Стрессоустойчивость коров черно-пестрой породы зоны Урала // Аграрный вестник Урала. 2022. № 11 (226). С. 25-37.
2. Ашенбреннер А. И., Беляева Н. Ю., Чекункова Ю. А., Хаперский Ю. А. Эффективность применения протоколов синхронизации полового цикла у коров при ановуляторном состоянии яичников // Вестник КрасГАУ, 2022, №4, с.133-139.
3. Красочко П.А., Холод В.М., Шабунин С.В., Донник И.М. [и др.] Общие вопросы иммунологии и возникновения иммунодефицитов. Краснодар, 2021.
4. Ятусевич А.И., Красочко П.А., Максимович В.В., Донник И.М. [и др.] Дифференциальная диагностика болезней сельскохозяйственных животных. Краснодар, 2021.
5. Рудаков Р.А. Эффективность фармакологической коррекции при функциональном состоянии яичников у коров /Дисс. канд. вет. наук. Ижевск, 2022, 131 с.
6. Красочко П. А., Холод В. М., Шабунин С. В. Донник И.М. [и др.] Прикладные аспекты иммуномодуляции с использованием средств природного происхождения. Краснодар: Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2021. 398 с.
7. Новые подходы к лабораторной диагностике состояния печени у крупного рогатого скота / Е. В. Кузьминова [и др.] // Аграрная наука. 2023. № 1. С. 22–26.
8. Кетоз и его роль в нарушении репродуктивной функции / Г.В. Ширяев [и др.] // Вестник РУДН. Сер. Агрономия и животноводство. 2020. Т. 15, № 4. С. 403–416.
9. Попова О.С., Паршин П.А., Алехин Ю.Н. Показатели вегетативной нервной системы и эндотоксикоза у коров при физиологической и осложненной гестозом беременности //Аграрный вестник Урала. 2023. Т. 23. № 11. С. 75-85.
10. Жуков М.С., Алехин Ю.Н., Паршин П.А., Тюрина Е.В. Продуктивность коров в зависимости от наличия гипохромной анемии во время беременности //Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. 2023. Т. 59. № 3. С. 13-17.
11. Алехин Ю.Н., Паршин П.А., Попова О.С., Лебедева А.Ю. Структура заболеваемости коров (нетелей) в третьем триместре беременностии значение гестоза в ее формировании //Ветеринарный фармакологический вестник. 2023. № 2 (23). С. 61-75.
12. Алехин Ю.Н., Паршин П.А., Моргунова В.И., Тюрина Е.В., Лебедева А.Ю. Состояние эритроцитарной системы при коморбидной патологии у коров // Ветеринарный фармакологический вестник. 2023. № 3 (24). С. 117-129.
13. Drozd M.N., Usevich V.M. Evaluation of the effectiveness of a mineral feed additive on micro histochemistry of some internal organs in experimental immunosuppression in animals //Agrarian Bulletin of the Urals. 2022. № 5 (220). С. 42-48.
14. Ustyugov A.D., Usevich V.M., Mil-

shtein I.M., Lukashova K.O. Morphobiochemical indicators of vietnamese potbellied pigs with concentrate type of feeding // Sbornik nauchnykh trudov Digital agriculture - development strategy. Proceedings of the International Scientific and Practical Conference (ISPC 2019). Ser. "Advances in Intelligent Systems Research" 2019. C. 486-490.
15. Loretts O.G., Barashkin M.I., Petrova O.G., Usevich V.M., Milshtein I.M., Drozd M.N., Odegov Ye S. The application of a feed additive in the treatment and prevention of cattle diseases //Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2019. T. 10. № 1. C. 697-706.

REFERENCES

1. Donnik I.M., Chechenikhina O.S., Smirnova E.S. Stressoustoychivost' korov chernopestroy porody zony Urala //Agrarnyy vestnik Urala. 2022. № 11 (226). S. 25-37.
2. Ashenbrenner A. I., Belyaeva N. Yu., Chekunkova Yu. A., Khaperskiy Yu. A. Effektivnost' primeneniya protokolov sinkhronizatsii polovogo tsikla u korov pri anovulyatornom sostoyanii yaichnikov //Vestnik KrasGAU, 2022, №4, s.133-139.
3. Krasochko P.A., Kholod V.M., Shabunin S.V., Donnik I.M. [i dr.] Obshchie voprosy immunologii i vozniknoveniya immunodefitsitov. Krasnodar, 2021.
4. Yatusevich A.I., Krasochko P.A., Maksimovich V.V., Donnik I.M. [i dr.] Differentsial'naya diagnostika bolezney sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh. Krasnodar, 2021.
5. Rudakov R.A. Effektivnost' farmakologicheskoy korrektsii pri funktsional'nom sostoyanii yaichnikov u korov /Diss. na soiskanie uch. st. kand. vet. nauk. Izhevsk, 2022, 131 s.
6. Krasochko P. A., Kholod V. M., Shabunin S. V. Donnik I.M. [i dr.] Prikladnye aspekty immunomodulyatsii s ispol'zovaniem sredstv prirodnogo proiskhozhdeniya. Krasnodar: Kubanskiy gosudarstvennyy agrarnyy universitet imeni I.T. Trubilina, 2021. 398 s.
7. Novye podkhody k laboratornoy diagnostike sostoyaniya pecheni u krupnogo rogatogo skota / E. V. Kuz'minova [i dr.] // Agrarnaya nauka. 2023. № 1. S. 22–26.
8. Ketoz i ego rol' v narushenii reproduktivnoy funktsii / G.V. Shiryaev [i dr.] // Vestnik RUDN. Ser. Agronomiya i zhivotnovodstvo. 2020. T. 15, № 4. S. 403–416.
9. Popova O.S., Parshin P.A., Alekhin Yu.N. Pokazateli vegetativnoy nervnoy sistemy i endotoksikoza u korov pri fiziologicheskoy i oslozhnennoy gestozom beremennosti //Agrarnyy vestnik Urala. 2023. T. 23. № 11. S. 75-85.
10. Zhukov M.S., Alekhin Yu.N., Parshin P.A., Tyurina E.V. Produktivnost' korov v zavisimosti ot nalichiya gipokhromnoy anemii vo vremya beremennosti //Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya Vitebskaya ordena Znak pocheta gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsiny. 2023. T. 59. № 3. S. 13-17.
11. Alekhin Yu.N., Parshin P.A., Popova O.S., Lebedeva A.Yu. Struktura zabolevaemosti korov (neteley) v tret'em trimestre beremennostii znachenie gestoza v ee formirovanii //Veterinarnyy farmakologicheskiy vestnik. 2023. № 2 (23). S. 61-75.
12. Alekhin Yu.N., Parshin P.A., Morgunova V.I., Tyurina E.V., Lebedeva A.Yu. Sostoyanie eritrotsitarnoy sistemy pri komorbidnoy patologii u korov //Veterinarnyy farmakologicheskiy vestnik. 2023. № 3 (24). S. 117-129.
13. Drozd M.N., Usevich V.M. Evaluation of the effectiveness of a mineral feed additive on micro histochemistry of some internal organs in experimental immunosuppression in animals //Agrarian Bulletin of the Urals. 2022. № 5 (220). C. 42-48.
14. Ustyugov A.D., Usevich V.M., Milshtein I.M., Lukashova K.O. Morphobiochemical indicators of vietnamese pot-bellied pigs with concentrate type of feeding //СБ. Digital agriculture - development strategy. Proceedings of the International Scientific and Practical Conference (ISPC 2019). Cep. "Advances in Intelligent Systems Research" 2019. C. 486-490.
15. Loretts O.G., Barashkin M.I., Petrova O.G., Usevich V.M., Milshtein I.M., Drozd M.N., Odegov Ye S. The application of a feed additive in the treatment and prevention of cattle diseases // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2019. T. 10. № 1. C. 697-706.

УДК: 636.082.12:636.2.034: 575.162: 619:611.69
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2025.4.563

РОЛЬ ГЕНА ПРОЛАКТИНА В ФОРМИРОВАНИИ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К МАСТИТАМ У КОРОВ КОСТРОМСКОЙ ПОРОДЫ

Чаицкая К.Д.* – канд. ветеринар. наук, доц. каф. внутренних незаразных болезней, хирургии и акушерства (ORCID 0000-0003-3282-4779); **Чаицкий А.А.** – канд. биол. наук, препод. каф. частной зоотехнии, разведения и генетики (ORCID 0000-0002-5853-3809); **Королев А.А.** – канд. с.-х. наук, зав. региональным информационно-селекционным центром (ORCID 0000-0003-1561-5449); **Щеголев П.О.** – канд. с.-х. наук, селекционер-зоотехник регионального информационно-селекционного центра (ORCID 0000-0003-3552-8457); **Кочуева Н.А.** – д-р биол. наук, проф. каф. внутренних незаразных болезней, хирургии и акушерства (ORCID 0000-0002-6637-4924); **Дуркина В.А.** – лаборант лаборатории генетики и ДНК технологий (ORCID 0009-0006-8530-6202).

ФГБОУ ВО «Костромская государственная сельскохозяйственная академия»

* *kseniyasabetova@mail.ru*

Ключевые слова: *ген пролактина, мастит, коровы, молочная железа.*
Key words: *prolactin gene, mastitis, cows, mammary gland.*
Финансирование: *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-26-00199, https://rscf.ru/project/24-26-00199/.*

Поступила: 11.08.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Основными функциями гормона пролактина у млекопитающих является маммогенез, лактогенез и галактопоэз, что служит основанием для поиска ассоциаций генотипов гена *PRL* с показателями морфофункциональных характеристик молочной железы коров, однако таких данных не представлено в открытых источниках литературы по крупному рогатому скоту. Цель исследования: провести анализ ассоциативных связей гена пролактина с формированием морфофункциональных особенностей молочной железы и предрасположенности к маститам у коров костромской породы. Исследование проводили в 2024-2025 гг. в рамках Гранта РНФ на племенных первотелках костромской породы (*n*=81) Костромской области. У животных проводили оценку морфофункциональных параметров молочной железы, анализ молока на содержание соматических клеток, диагностику мастита и определение генотипа по гену пролактина. В результате исследования установлено, что наибольшую частоту в выборке коров костромской породы имел генотип PRL^{AG} (0,481). Также было обнаружено, что среди коров костромской породы мастит чаще всего регистрировали у особей генотипа PRL^{GG} (в 25% случаев). Однако оценка коров по модели «случай-контроль» не показала наличия достоверной связи генотипа по гену пролактина с фактом развития мастита у животных (*P=0,7112*). При этом носители аллеля PRL^{G} отличались лучшим развитием некоторых признаков экстерьера, связанных с пригодностью к машинному

доению, в частности, развитием задних долей, формой и выраженностью складки вымени, что указывает на развитие железистой ткани молочной железы. Тем не менее, тенденцией к более высокому удою обладали носители генотипа *AA* – на 12,93%, по сравнению с гетерозиготами, и на 9,05% – в сравнении с коровами генотипа PRL^{GG}. Результаты указывают на сложный характер воздействия рассматриваемого локуса на признаки развития молочной железы и необходимость дальнейших исследований с большим количеством животных в выборке и изучаемых генов-маркеров.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Ген пролактина (*PRL*) определяет синтез одноименного гормона, основными функциями которого у млекопитающих является маммогенез, лактогенез и галактопоэз. Активное участие пролактина в этих процессах служит основанием для поиска ассоциаций генотипов гена *PRL* с показателями морфофункциональных характеристик молочной железы коров, однако таких данных не представлено в открытых источниках литературы по крупному рогатому скоту. Ген считается одним из ключевых звеньев в генной сети, составляющей наследственный компонент молочной продуктивности, что дает возможность находить его перспективным геном-кандидатом для оценки молочной продуктивности коров [1]. Поэтому многими учеными описаны именно взаимосвязи гена пролактина с показателями молочной продуктивности коров.

У крупного рогатого скота ген пролактина расположен на хромосоме 23 и тесно сцеплен с генами главного комплекса гистосовместимости. Его размер около *10 kb* и он включает 5 экзонов, кодирующих 199 аминокислот, и 4 интрона. Наличие *A* и *G* аллелей гена *PRL* обусловлено *A*-*G* транзицией в экзоне 3, соответствующей 103 кодону. Аллель *G* обычно встречается чаще, чем *A* [2-9].

По данным анализа литературы существуют противоречивые данные об ассоциации генотипов гена *PRL* с молочной продуктивностью [2-15].

Рядом исследователей показано, что высокий удой, массовую долю жира и выход молочного жира имеют голштинские, голштинизированные черно-пестрые, бестужевские, айрширские, холмогорские и симментальские коровы с генотипами PRL^{AA} и PRL^{AG} [10-15]. Напротив, в работах А.И. Ганджа, Ф.Ф. Зиннатова с соавторами установлено, что голштинские коровы с генотипом PRL^{GG} имели наиболее высокие показатели удоя и молочного жира [3, 16]. Та же тенденция была выявлена и учеными на коровах голштинской популяции белорусской селекции. Особи PRL^{GG} превосходили на 5,75% по количеству молока за лактацию, на 2,6% и 4,8% по выходу молочного жира и белка соответственно носителей альтернативного гомозиготного генотипа [3].

Среди коров костромской породы ранее (2024 г.) нами были установлены наиболее высокие показатели молочной продуктивности у особей генотипа *AG* по гену *PRL*. Так, первотелки PRL^{AG} по удою на 8,4%, по МДЖ на 3,2%, по МДБ на 0,6% превосходили сверстниц с генотипом *AA* [17].

Большая часть научных работ содержит характеристику частоты генотипов гена пролактина голштинских и голштинизированных коров и сравнительно скудные данные об отечественных породах крупного рогатого скота, при этом опубликовано недостаточно данных об ассоциации генотипа гена пролактина с показателями молочной продуктивности коров, а также отсутствуют сведения об ассоциации полиморфных вариантов данного гена с морфофункциональными характеристиками молочной железы коров разных пород.

Таким образом, изучение роли гена пролактина в формировании морфофункциональных особенностей молочной железы и предрасположенности к маститам у коров обладает достаточной новизной и актуальностью.

Цель исследования: провести анализ ассоциативных связей гена пролактина с формированием морфофункциональных особенностей молочной железы и предрасположенностью к маститам у коров костромской породы.

Таблица 1 – Частота генотипов и аллелей гена *PRL* у крупного рогатого скота костромской породы (литературные данные)

Порода	Частота генотипов			Частота аллелей		Источник данных
	GG	*AG*	*AA*	*G*	*A*	
Костромская порода	0,496	0,448	0,056	0,720	0,280	Перчун А. В. и др., 2012 [7]
	0,556	0,387	0,056	0,750	0,250	Lazebnaya I.V. et al., 2013 [8]
	0,604	0,375	0,021	0,790	0,210	Сабетова К.Д. и др., 2022 [9]

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводили в 2024-2025 гг. на племенных коровах-первотелках костромской породы (n=81), из них – АО «Племзавод «Караваево» (n=33), ООО «Агрофирма «Планета» (n=17), ООО «Минское» (n=31).

Данные зоотехнического учета были получены из ИАС «СЕЛЭКС» (ООО «РЦ ПЛИНОР», Россия), ветеринарного учета – из программы по управлению сельскохозяйственными организациями в области животноводства «М-комплекс» (ООО «М-КОМПЛЕКС СОФТ», Россия).

Линейную оценку первотелок проводили с 30 по 120 день лактации, (Приказ Минсельхоза РФ от 1 февраля 2011г. №25 «Об утверждении Правил ведения учета в племенном скотоводстве молочного и молочно-мясного направлений продуктивности».СНПплем Р 10-96. «Правила оценки телосложения дочерей быков производителей молочно-мясных пород», утвержденные Департаментом животноводства и племенного дела Минсельхозпрода России 14.06.1996 г.).

Морфологическую оценку вымени выполняли по методике ВАСХНИЛ (Оценка вымени коров, процесс молокоотдачи и болезни молочной железы в связи с машинным доением: Указ. лит. за 1982-1988 гг. / ВАСХНИЛ, ВНИИТЭИ агропром, Центр. науч. с.-х. б-ка ВАСХНИЛ. – 1990. – 101 с.) форму вымени определяли визуальным методом за 1-1,5 ч до доения. Функциональные свойства вымени оценивали у коров на 2 и 4 месяце лактации при помощи устройства для зоотехнического контроля молока ММ-04. Продолжительность доения измеряли с помощью секундомера.

Во время контрольных доек проводили отбор средних проб молока объемом 50 мл в промаркированные чистые герметичные контейнеры с консервантом. Количество соматических клеток (СК) (Межгосударственный стандарт ГОСТ 23453-2014 «Молоко сырое. Методы определения соматических клеток». (Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 08 декабря 2014 г. N 1950-ст введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 01 января 2016 г.)).

В молоке на 3 месяце лактации у коров-первотелок определяли на анализаторе молока «СОМАТОС» (ООО ВПК «СибагроПРИБОР», Россия) вискозиметрическим методом и на приборе *Bentley SomaCount FC («Bentley Instruments Inc.»*, США) методом лазерной поточной цитометрии.

Уровень соматических клеток, указывающий на заболевание у коров (300-800 тыс. кл/мл – субклинический мастит, 801 тыс. кл/мл и выше – клинический мастит) (Исакова, М. Н. Эффективность использования данных, полученных с электронной системы роботизированного доения, при комплексной диагностике мастита у коров / М. Н. Исакова, М. В. Ряпосова // Ветеринария сегодня. – 2023. – Т. 12, № 2. – С. 119-125. – DOI 10.29326/2304-196X-2023-12-2-119-125. – EDN USZGDF [136].) дополнительно подтверждали диагностикой на мастит.

Диагностика клинического мастита проведена ветеринарным врачом визуально и при помощи методов пальпации и пробного доения на основе характерных

клинических признаков: изменение внешнего вида молочной железы и ее секрета. Диагностика субклинического мастита осуществлялась с помощью экспресс-диагностических тестов с помощью молочно-контрольной пластинки плашечным методом с использованием реактива «Кенотест» *(«CID LINES»*, Бельгия).

Для проведения молекулярно-генетических исследований проводили отбор биологического материала у коров. В качестве источника ДНК использовали цельную периферическую кровь. Биоматериал у животных отбирали из хвостовой вены в индивидуальные стерильные промаркированные вакуумные пробирки с антикоагулянтом ЭДТА К2 (*«IMPROVE»*, Германия) с соблюдением правил асептики и антисептики. Экстракцию ДНК из биоматериала проводили сорбентным способом с помощью набора ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА (ООО «НПО ДНК-технология», Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Образцы ДНК были промаркированы. Условия хранения ДНК: в морозильной камере при температуре –40 °С.

В ходе исследований разработана генетическая тест-система для быстрой и чувствительной идентификации методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) однонуклеотидного полиморфизма (*SNP*) гена пролактина (*PRL*) у крупного рогатого скота. Поиск последовательностей выполнен с помощью биоинформационных баз данных *NCBI* и *Ensembl*. Анализ нуклеотидных последовательностей, подбор праймеров и зондов проводили с помощью компьютерной программы *Oligo 6.0* (таблица 2). Праймеры и зонды синтезированы ООО «НПО ДНК-технология» (Россия).

Таблица 2 – Последовательности для генотипирования коров по гену *PRL*

№	Название	Последовательность
1	Ген пролактина (*PRL*) – *rs42646708 (1:g.22916046G>A)*	
	PRL - forw (прямой)	*CCTTATGAGCTTGATTCTTGGGTTGCTG*
	PRL - rev (обратный)	*ATATCATCTCCATGCCTTCCAGAAGTCG*
	PRL_A	*CGAGGTACGGGGTATG-FAM*
	PRL_G	*CGAGGTGCGGGGTATG-HEX*
	PRL_BHQ	*BHQ1-AAAGGAGCCCCAGATGCTAT-P*

Специфичность тест-систем оценивали биоинформационным методом, сравнивая подобранные последовательности против базы данных *GenBank* и проверяя их на температурную стабильность и температуру отжига с помощью *Oligo 6.0*. Тест-система демонстрировала стабильную воспроизводимость результатов при анализе количества копий ДНК, превышающего порог чувствительности тест-системы.

Контроль качества ДНК проводили с помощью набора реактивов *Lumiprobe* (Россия) на флуориметре *Fluo-200* (*Allsheng,* Китай) по инструкции производителя, а оценку эффективности работы праймеров – методом агарозного гель-электрофореза в камере *SE-2* («Хеликон», Россия) с источником питания Эльф-4 (ООО «НПО ДНК-технология», Россия) по стандартной методике.

Генотипирование крупного рогатого скота по гену пролактина (*PRL*) реализовано с помощью определения его полиморфизма на уровне аллелей методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) с детекцией результатов гибридизационно-флуоресцентным способом. Для обеспечения специфичности определения *SNP* применяли модифицированные типирующие зонды с двумя разными флуорофорами и универсальный тугоплавкий зонд с гасителем флуоресценции [18].

Генотипирование образцов ДНК проводили на амплификаторе «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-технология», Россия) при температуре отжига праймеров 67ºС.

В состав смеси для постановки ПЦР (на

1 образец ДНК) входило 5 мкл образца ДНК, 20 мкл ПЦР-смеси, 0,24 мкл 25 *мМ* дезоксинуклеозидтрифосфат (*dNTP*), 10 мкл раствора полимеразы (0,5 мкл *TAQ* полимеразы и 9,5 мкл ПЦР-буфера). В состав ПЦР-смеси входили следующие компоненты: меченные флуоресцентными метками специфические зонды *FAM* и *HEX* по 0,1 мкл, гаситель флуоресценции – зонд *BHQ* – 0,3 мкл, праймер обратный – 0,6 мкл, праймер прямой – 0,1 мкл.

Для проведения полимеразной цепной реакции использовался фермент *TAQ* ДНК полимераза со стандартным буфером фасовкой 5000 е.а. с концентрацией 5000 е.а./мл производства ООО «СибЭнзайм».

В качестве положительного контрольного образца использовали пробу с подтвержденным методом секвенирования генотипом. Отрицательным контрольным образцом являлась проба, полученная при внутреннем контроле в ходе проведения экстракции ДНК, представляющая собой деионизированную воду в элюирующем растворе.

Определение генотипа проводили с помощью анализа кривых плавления.

Частоту генотипов *PRL* рассчитывали по формуле 1:

$$P = \frac{m}{N}, \quad (1)$$

где *P* – частота встречаемости генотипа в группе;

m – количество носителей определенного генотипа,

N – общее число особей.

Частоту аллельных вариантов гена *PRL* вычисляли по формуле 2:

$$p = \frac{2n_{GG}+n_{AG}}{2N} \quad \text{и} \quad q = \frac{2n_{AA}+n_{AG}}{2N}, \quad (2)$$

где *p* – частота встречаемости аллеля *G*,

q – частота встречаемости аллеля *A*,

n_{GG}, n_{AG}, n_{AA} – число носителей генотипов *GG, AG* и *AA* соответственно,

N – общее число животных в группе.

Равномерность распределения аллелей гена и генное равновесие оценивали при помощи уравнения Харди-Вайнберга (3):

$$p^2+2pq+q^2=1, \quad (3)$$

где *p* и *q* – частоты аллелей *G* и *A* соответственно.

Оценку шанса возникновения мастита при наличии того или иного аллельного варианта гена пролактина проводили по модели «случай-контроль» с расчетом показателя отношения шансов (ОШ) по формуле 4:

$$\text{ОШ} = \frac{A \times D}{B \times C}, \quad (4)$$

где *A, B, C, D* – левое верхнее, правое верхнее, левое нижнее и правое нижнее поля таблицы соответственно.

Доверительный интервал (ДИ) для ОШ рассчитывали по формуле:

$$\text{ДИ} = e^{\ln(\text{ОШ}) \mp 1{,}96\sqrt{\frac{1}{A}+\frac{1}{B}+\frac{1}{C}+\frac{1}{D}}}, \quad (5)$$

Статистическую обработку результатов исследований выполнили при помощи табличного процессора *Excel*, входящего в пакет офисных программ *Microsoft Office* 2019. Проверка статистических гипотез выполнялась при помощи языка статистического программирования *R* версии 4.3.3 в среде разработки *RStudio* версии 2023.12.1 (*Build* 402). Перед проведением межгрупповых сравнений количественных показателей сформированные выборки проверялись на соответствие нормальному типу распределения путем построения гистограмм по каждой выборке и их визуальной оценке. В спорных случаях дополнительно проводили тестирования выборок методом Шапиро-Уилка при помощи функции *R shapiro.test()*, а также построением графика квартильного распределения вариант *R qqnorm()* и наложением линии, соответствующей нормальному распределению квартилей *R qqline()*.

В результате выявленного несоответствия большинства выборок нормальному типу распределения вариант, для характеристики групп животных применялась медиана с 95%-ными доверительными интервалами, вычисленная при помощи теста Манна-Уитни-Уилкоксона – функция *R wilcox.test(x, conf.int=True)*. Тестирование статистической значимости разности между группами животных проводили также путем расчета U-критерия в

парном варианте этого же теста – *wilcox.test(x, y)* – с последующей корректировкой полученных *P*-значений методом Бонферрони – функция *R p.adjast(x, method="bonferroni")*. Уровень статистической значимости считался достигнутым при значении P<0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате молекулярно-генетических исследований были получены следующие результаты о частоте генетических вариантов пролактина в стадах костромской породы коров Костромской области (таблица 3).

Установлено, что наиболее часто среди коров костромской породы встречался гетерозиготный генотип PRL^{AG} (0,481), что согласуется с ранее полученными данными по костромской породе [17]. Однако, если рассматривать в разрезе племенных хозяйств, отмечено, что в АО «Племзавод «Караваево» более чем в половине случаев регистрировался генотип PRL^{GG}, возможно вследствие направленной селекции. При этом в предприятиях ООО «Минское» и ООО «Агрофирма «Планета» прослеживается общая динамика смещения в сторону гетерозиготности особей по данному гену.

Результаты проверки гипотезы о равномерности распределения аллелей гена *PRL* согласно закону Харди-Вайнберга при помощи метода «хи-квадрат» в изученных группах коров костромской породы не позволила принять альтернативную гипотезу (*P=0,97404*), что говорит об отсутствии значимого различия между наблюдаемыми и теоретически ожидаемыми частотами генотипов и, следовательно, о свободном распространении аллелей *PRL* в этих группах.

Согласно данным таблицы 4, наиболее частым в популяциях костромской породы коров Костромской области является аллель *G* гена пролактина.

Таблица 3 – Частота генотипов гена *PRL* у коров костромской породы

Предприятие / порода	*N*, голов	Частота генотипов гена пролактина								
		GG			*AG*			*AA*		
		n	доли	%	n	доли	%	*n*	доли	%
АО «Племзавод «Караваево»	33	18	0,545	54,545	10	0,303	30,303	5	0,152	15,152
ООО Минское»	31	8	0,258	25,806	19	0,613	61,290	4	0,129	12,903
ООО Агрофирма «Планета»	17	5	0,294	29,412	10	0,588	58,824	2	0,118	11,765
Костромская порода	81	31	0,383	38,272	39	0,481	48,148	11	0,136	13,580

Таблица 4 – Частота аллелей гена *PRL* у коров костромской породы

Предприятие / порода	*N*, голов	Частота аллелей гена пролактина			
		G		*A*	
		доли	%	доли	%
АО «Племзавод «Караваево»	33	0,697	69,697	0,303	30,303
ООО «Минское»	31	0,565	56,452	0,435	43,548
ООО «Агрофирма «Планета»	17	0,588	58,824	0,412	41,176
Костромская порода	81	0,623	62,346	0,377	37,654

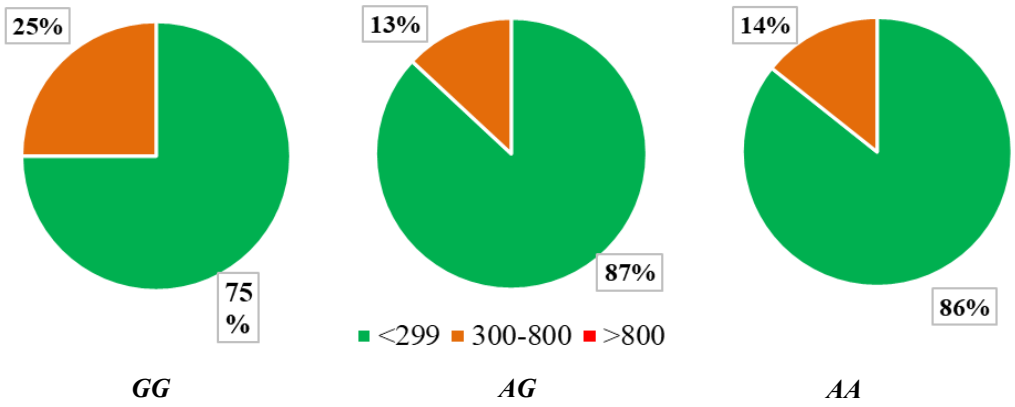


Рисунок 1 – Уровень соматических клеток в молоке коров костромской породы разных генотипов гена PRL.

Таблица 5 – Модель «случай-контроль» для оценки шанса возникновения мастита у коров костромской породы

Группа животных	Аллель *PRL*		Всего	Отношение шансов
	G	*A*		
АО «Племзавод «Караваево»				
Субклинический мастит	15,00	5,00	46,00	3,00
Здоровые	31,00	15,00	46,00	2,066666667
Всего	46,00	20,00	92,00	1,451612903
в целом по костромской породе				
Субклинический мастит	15,00	5,00	20,00	3,00
Здоровые	56,00	32,00	88,00	1,75
Всего	71,00	37,00	108,00	1,714286

В результате определения количества соматических клеток в молоке коров костромской породы установлено, что субклинический мастит чаще всего регистрировали у особей GG-генотипа гена пролактина (рисунок 1).

Такое распределение позволяет предположить, что аллель *A* может быть ассоциирован с устойчивостью молочной железы коров к воспалительным процессам, в то время как гомозиготный генотип *GG* связан с риском повышения уровня соматических клеток в молоке коров.

В то же время при оценке распределения носителей аллелей *PRL* изучаемой популяции костромской породы в зависимости от проявления субклинического мастита по модели «случай-контроль» достоверного влияния аллеля *G* на восприимчивость к возникновению маститов у коров нами не было выявлено (таблица 5).

Несмотря на то, что шанс встретить носителя аллеля *G* в группе коров с субклиническим маститом в АО «Племзавод Караваево» в 1,45 раза выше, чем носителя аллеля *A* в этой же группе (ДИ 0,40-6,06), тест Фишера показал невозможность принять альтернативную гипотезу о равенстве отношений шансов (*P=0,7112*). То же самое можно сказать про объединенную выборку коров костромской породы, где шанс встретить носителя аллеля *G* среди животных с маститом был в 1,71 раза выше, чем у носителей аллеля *A* (ДИ 0,52-6,57).

Для оценки морфологических характеристик молочной железы была проведе-

на линейная оценка коров разных генотипов по гену PRL (таблица 6).

По результатам линейной оценки вымени первотелок костромской породы достоверных различий между животными разных генотипов по локусу *PRL* не было установлено. При этом наблюдалась тенденция к более высоким медианным оценкам ширины задних долей и борозды вымени у особей генотипа PRL^{GG}, тогда как по длине передних долей, передних и задних сосков и общей оценке вымени выделяются носительницы генотипа PRL^{AA}. Развитие задних долей вымени, по некоторым данным, может указывать на высокие показатели молочной продуктивности [19].

При оценке морфологических параметров молочной железы коров важное значение имеет форма вымени. Наиболее предпочтительными для машинного доения являются ваннообразная и чашеобразная [19].

Таблица 6 – Линейная оценка вымени коров костромской породы в разрезе генотипов гена *PRL*

Показатели	Оптимальное значение[1]	Генотипы гена пролактина		
		GG	*AG*	*AA*
n	-	31	39	11
Прикрепление передних долей	8	5,0 (5,0…6,0)	5,0 (5,0…5,0)	5,0 (4,5…5,0)
Длина передних долей	9	5,5 (5,0…6,0)	5,0 (5,0…5,50)	6,0 (5,0…6,5)
Высота прикрепления задних долей	9	5,5 (5,0…6,0)	5,5 (5,0…5,5)	5,5 (4,5…6,5)
Ширина задних долей	9	6,5 (6,0…7,0)	5,5 (5,0…6,0)	6,0 (5,5…7,0)
Борозда вымени	9	7,5 (6,5…8,0)	7,0 (6,5…8,0)	6,0 (4,5…7,5)
Положение дна вымени	6	5,0 (5,0…5,5)	5,0 (5,0…5,5)	5,0 (5,0…5,5)
Расположение передних сосков	5	5,0 (5,0…5,0)	5,0 (5,0…5,0)	5,0 (5,0…5,0)
Расположение задних сосков	5	5,0 (5,0…5,0)	5,0 (5,0…5,0)	5,0 (5,0…5,5)
Длина передних сосков	5	5,5 (5,0…5,7)	5.2 (4,9…5,5)	5,6)4,2…6,5)
Длина задних сосков	5	3,7 (3,2…4,0)	3,7 (3,5…4,2)	4,2 (3,2…5,5)
Общий вид вымени	100	80,9 (80,0…81,5)	80,1 (79,5…80,7)	81,4 (79,7…82,9)

Примечание: [1] – СНПплем Р 10-96. «Правила оценки телосложения дочерей быков производителей молочно-мясных пород», утвержденные Департаментом животноводства и племенного дела Минсельхозпрода России 14.06.1996 г.

Было установлено, что в выборке коров костромской породы преимущественно регистрировали чашеобразную форму вымени вне зависимости от генотипа животного (64-70%), что возможно указывает на ведение направленной селекционной работы на улучшение морфологических признаков молочной железы коров (см. рисунок 2). При этом было отмечено, что вымя ваннообразной формы наиболее часто встречалось у коров *GG*-генотипа гена пролактина. В то же время, округлая форма молочной железы, обладающая меньшей вместимостью и склонностью к отвисанию из-за слабости связочного аппарата, была характерна для особей с аллелем *A* в генотипе по гену пролактина, и наиболее часто регистрировалась у гетерозиготного генотипа.

В таблице 7 наблюдаются общеиз-

вестные тенденции, что чем выше суточный удой у коровы, тем дольше времени требуется на полное опорожнение вымени и тем меньше скорость молокоотдачи. В целом, скорость молокоотдачи соответствовала оптимальным значениям, в соответствии с правилами бонитировки для животных вне зависимости от генотипа животных [19].

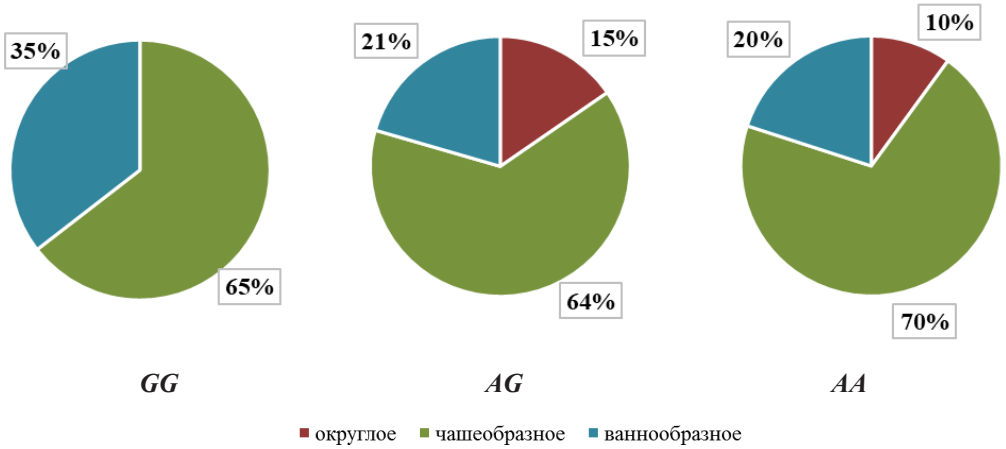


Рисунок 2 – Распределение исследуемых коров костромской породы разных генотипов гена PRL по форме вымени.

Таблица 7 – Функциональные свойства вымени коров костромской породы разных генотипов гена *PRL*

Порода / хозяйство	Показатель	Генотипы гена пролактина		
		GG	*AG*	*AA*
Костромская порода	*n*	31	39	11
	суточный удой, кг	24,20 (22,50…26,50)	25,85 (23,85…27,30)	28,14 (24,99…29,00)
	продолжительность доения, мин	11,24* (10,40…12,25)	11,55 (11,99…12,50)	13,50 (12,05…13,00)
	скорость молокоотдачи, кг/мин	2,16 (2,08…2,22)	2,13 (2,05…2,23)	2,08 (1,93…2,18)

Примечание: Достоверность различий указана в сравнении с генотипом АА гена PRL (–P≤0,05).*

В ходе анализа данных обнаружилась тенденция к более высокому суточному удою коров генотипа PRL^{AA} по сравнению со сверстницами PRL^{GG} и PRL^{AG} генотипов на 14% и 8,1% соответственно. У этих животных продолжительность доения оказалась значимо больше по сравнению с гомозиготными сверстницами PRL^{GG} (на 16,7%, P=0,04275), однако разница по этому параметру с гетерозиготами PRL^{AG} в размере 14,4% не достигла порога статистической значимости (P=0,07623). При этом существенных различий функциональных характеристик молочной железы у первотелок *GG*- и *AG* -генотипа не установлено (см. таблицу 7).

В результате анализа показателей молочной продуктивности первотелок ко-

стромской породы разных генотипов гена *PRL* установлено, что тенденция к более высокому уровню молочной продуктивности регистрировалась у носителей генотипа *AA* гена пролактина – 7855,2 (6931,5…9035,0) кг, что было выше на 12,93%, чем у гетерозигот, и на 9,05%, чем у особей альтернативного гомозиготного генотипа (таблица 8).

Различия по качественным показателям молока (МДЖ и МДБ) у животных данной выборки также не достигали уровня статистической значимости, однако отмечали тенденцию к большим значениям у гетерозиготных особей (см. таблицу 8), что соответствовало предыдущим данным [17].

Таблица 8 – Молочная продуктивность первотелок костромской породы разных генотипов гена *PRL*

Порода	Показатель	Генотипы гена пролактина		
		GG	*AG*	*AA*
Костромская порода	*n*	31	37	11
	удой, кг	7144,5 (6476,5…7797,0)	6839,5 (6311,5…7348,0)	7855,2 (6931,5…9035,0)
	жир, %	4,13 (4,01…4,25)	4,21 (4,11…4,36)	4,05 (3,91…4,33)
	белок, %	3,56 (3,47…3,65)	3,55 (3,47…3,66)	3,58 (3,41…3,72)

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, в результате исследований установлено, что наибольшую частоту в выборке коров костромской породы имел гетерозиготный генотип PRL^{AG} (0,481).

Также было обнаружено, что среди коров костромской породы мастит чаще всего регистрировали у особей генотипа PRL^{GG} (в 25% случаев). Однако оценка коров костромской породы по модели «случай-контроль» не показала наличия достоверной связи генотипа по гену пролактина с фактом развития мастита у животных (*P=0,71123*).

По результатам линейной оценки вымени первотелок костромской породы было установлено, что у особей генотипа PRL^{GG} имелась тенденция к лучшей оценке развития задних долей и железистой ткани вымени, а у животных с генотипом PRL^{AA} – развития передних долей, длины сосков и общей оценки вымени. При этом преимущественно (64-70%) регистрировали чашеобразную форму вымени вне зависимости от генотипа животного, что возможно указывает на ведение направленной селекционной работы на улучшение морфологических признаков молочной железы коров. Вымя ваннообразной формы наиболее часто встречалось у коров *GG*-генотипа гена пролактина.

В результате оценки функциональных свойств вымени установлено, что у носителей генотипа PRL^{AA} продолжительность доения была выше на 16,7% по сравнению со сверстницами PRL^{GG} (*P=0,04275*), незначимо превышая аналогичный показатель гетерозигот PRL^{AG}. Однако полиморфизм гена PRL не оказал значимого влияния на скорость молокоотдачи, суточный удой и показатели молочной продуктивности (удой, содержание жира и белка) за 305 дней лактации.

Таким образом, носители аллеля *G* гена пролактина значимо отличались более продолжительным временем доения и тенденцией к лучшему развитию задних долей и железистой ткани вымени. Тем не менее, тенденцию к более высокому удою, развитию передних долей вымени и сосков показывали носители аллеля *A*.

Возможно улучшение морфологических параметров вымени коров для машинного доения с помощью традиционных методов селекции могло способствовать большему появлению количества соматических клеток в молоке из-за интенсивного ее развития. При этом у таких коров удой может быть несколько ниже, чем у неотселекционированных, из-за сочетания генетических и других факторов (условий содержания и кормления). Все вышесказанное указывает на слож-

ный характер воздействия рассматриваемого локуса на признаки развития молочной железы и говорит о необходимости дальнейших исследований с большим количеством животных в выборке и изучаемых генов-маркеров.

THE ROLE OF THE PROLACTIN GENE IN THE FORMATION OF MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF THE MAMMARY GLAND AND PREDISPOSITION TO MASTITIS IN COWS OF THE KOSTROMA BREED

Chaickaya K.D.* – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of of the Department of Internal Non-Communicable Diseases, Surgery and Obstetrics (ORCID 0000-0003-3282-4779)**, Chaitskiy A.A. –** Candidate of Biological Sciences, Lecturer at the Department of Private Animal Science, Breeding and Genetics (ORCID 0000-0002-5853-3809)**, Korolev A.A. –** Candidate of Agricultural Sciences, Head of the Regional Information and Breeding Center (ORCID 0000-0003-1561-5449), **Schiogolev P.O. –** Candidate of Agricultural Sciences, Livestock Breeder of the Regional Information and Breeding Center (ORCID 0000-0003-3552-8457)**, Kochueva N.A. –** Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Internal Non-Communicable Diseases, Surgery and Obstetrics (ORCID 0000-0002-6637-4924), **Durkina V.A. –** Laboratory assistant at the Laboratory of Genetics and DNA Technologies (ORCID 0009-0006-8530-6202).

FSBEI HE Kostroma SAA

* kseniyasabetova@mail.ru

Financing: *The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 24-26-00199, https://rscf.ru/project/24-26-00199 /.*

ABSTRACT

The main functions of the prolactin hormone in mammals are mammogenesis, lactogenesis and galactopoiesis, which serves as the basis for searching for associations of the *PRL* gene genotypes with the parameters of the morphofunctional characteristics of the mammary gland of cows, but such data are not presented in open sources of literature on cattle. The aim of the study: to analyze the associative links of the prolactin gene with the formation of morphofunctional features of the mammary gland and predisposition to mastitis in Kostroma cows. The study was conducted in 2024-2025 within the framework of the RSF Grant on breeding first-calf heifers of the Kostroma breed (n = 81) in the Kostroma region. The animals were assessed for morphofunctional parameters of the mammary gland, milk was analyzed for somatic cell content, mastitis was diagnosed and the genotype was determined by the prolactin gene. The study found that the PRL^{AG} genotype (0.481) had the highest frequency in the sample of Kostroma cows. It was also found that among the Kostroma cows, mastitis was most often recorded in individuals with the PRL^{GG} genotype (in 25% of cases). However, the assessment of cows using the case-control model did not show a reliable association between the prolactin gene genotype and the fact of mastitis development in animals (*P=0.7112*). At the same time, the carriers of the PRL^{G} allele were distinguished by the better development of some exterior features related to suitability for machine milking, in particular, the development of the posterior lobes, the shape and severity of the udder fold, which indicates the development of glandular breast tissue. Nevertheless, carriers of the *AA* genotype tended to have a higher milk yield – by 12.93% compared to heterozygotes, and by 9.05% compared to cows of the PRL^{GG} genotype. The results indicate a complex nature of the effect of the locus in question on the signs of mammary gland development and the need for further research with a larger number of animals in the sample and the studied marker genes.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Вишневец, А.В. Использование молекулярно-генетического маркера пролактин (PRL-RsaI) в селекции быков-производителей РУП «Витебское племпредприятие» / А.В. Вишневец, Р.В. Бе-

киш, В.К. Смунева, Т.Г. Юзефович // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2012. – Т. 48. – № 2-2. – С. 29-32.
2. Сафина, Н.Ю. Влияние полиморфизма гена пролактин (PRL) на молочную продуктивность коров-первотелок / Н.Ю. Сафина, Ф.Ф. Зиннатова, Э.Р. Гайнутдинова, Ш.К. Шакиров // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки : Материалы IX Международной научно-практической конференции, Владикавказ, 12–14 декабря 2019 года. – Владикавказ: Веста, 2019. – С. 225-228. – EDN OZSTLU.
3. Ганджа, А.И. Ассоциация полиморфизма гена пролактина с показателями молочной продуктивности коров голштинской популяции белорусской селекции / А.И. Ганджа, Н.В. Журина, О.П. Курак [и др.] // Научное обеспечение животноводства Сибири : материалы III международной научно-практической конференции, Красноярск, 16–17 мая 2019 года. – Красноярск: Красноярский научно-исследовательский институт животноводства - обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федеральный исследовательский центр "Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук", 2019. – С. 105-108. – EDN BIIBAV.
4. Ахметова, А.Н. Генетическая структура крупного рогатого скота голштинской породы в Кабардино-Балкарии по генам PRL и GH / А.Н. Ахметова, Д.В. Халишхова, З.И. Боготова, А.Х. Кучменов // Известия Кабардино-Балкарского научного центра РАН. – 2020. – № 4(96). – С. 26-33. DOI 10.35330/1991-6639-2020-4-96-26-33.
5. Михалюк, А.Н. Оценка генетической структуры коров красной белорусской породной группы, белорусской черно-пестрой породы и голштинской породы молочного скота отечественной селекции по генам диацилглицерол О-ацилтрансферазы 1 (DGAT1), соматотропина (GH), пролактина (PRL) и бета-лактоглобулина (BLG) // Сельское хозяйство - проблемы и перспективы : Сборник научных трудов. Том 56. – Гродно : Гродненский государственный аграрный университет, 2022. – С. 140-150.
6. Чевтаева, Н.Д. Изучение ассоциации гена гормона пролактина (PRL) с молочной продуктивностью коров голштинской породы / Н.Д. Чевтаева, Ф.Ф. Зиннатов, И.Т. Бикчантаев // Аграрный научный журнал. – 2024. – № 4. – С. 94-98. – DOI 10.28983/asj.y2024i4pp94-98. – EDN BMGFMW.
7. Перчун, А.В. Полиморфизм генов CSN3, bPRL И bGH у коров костромской породы в связи с показателями молочной продуктивности / А.В. Перчун, И.В. Лазебная, С.Г. Белокуров, М.Н. Рузина, Г.Е. Сулимова // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 11-2. – С. 304-308.
8. Lazebnaya, I.V. Use of the Bovine Prolactin Gene (bPRL) for estimating genetic variation and milk production in aboriginal Russian breeds of Bos Taurus / I.V. Lazebnaya, O.E. Lazebny, S.R. Khatami, G.E. Sulimova // Prolactin, Edited by Gyorgy M. Nagy and Bela E. Toth. Rijeka: INTECH. – 2013. – P. 35- 52.
9. Сабетова, К.Д. Анализ частоты встречаемости разных генотипов гена пролактина у коров костромской породы / К.Д. Сабетова, А.А. Чаицкий, П.О. Щеголев // Повышение производства продукции животноводства на современном этапе : сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции, посвященной 95-летию кафедры частного животноводства, Витебск, 02–04 ноября 2022 года. – Витебск: Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины ", 2022. – С. 70-73.
10. Тарасова, Е.И. Гены-маркеры продуктивных характеристик молочного скота (обзор) / Е.И. Тарасова, С.В. Нотова // Животноводство и кормопроизводство. – 2020. – Т.103. – №3. – С. 58-80.
11. Погорельский, И.А. Полиморфизм генов бета-лактоглобулина, гормона роста и пролактина и влияние их генотипов на молочную продуктивность коров /

И.А. Погорельский, Г.Н. Сердюк, М.В. Позовникова // Молочное и мясное скотоводство. – 2014. – № 6. – С. 9-13.
12. Долматова, И.Ю. Взаимосвязь полиморфных генов пролактина и соматотропина крупного рогатого скота с молочной продуктивностью / И.Ю. Долматова, И.Н. Ганиева, Т.В. Кононенко, Ф.Р. Валитов // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. – 2020. – № 1 (53). – С. 70-78.
13. Тюлькин, С.В. Полиморфизм по генам соматотропина, пролактина, лептина, тиреоглобулина быков-производителей / С.В. Тюлькин, Т.М. Ахметов, Э.Ф. Валиуллина, Р.Р. Вафин // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2012. – Т. 16. – № 4-2. – С. 1008-1012.
14. Багаль, И.Е. Полиморфизм генов молочных белков и гормонов у коров высшей селекционной группы холмогорской породы : диссертация ... кандидата биологических наук : 06.02.07 / Багаль Ирина Евгеньевна; [Место защиты: Всерос. науч.-исслед. ин-т племенного дела]. - Лесные Поляны, 2017. - 152 с. : ил.
15. Михалюк, А.Н. Влияние генов пролактина (PRL) и бета-лактоглобулина (BLG) на показатели молочной продуктивности коров высокоголштинизированной белорусской черно-пестрой породы / А.Н. Михалюк, Л.А. Танана, О.А. Епишко // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2021. – Т. 57, № 2. – С. 122-127. – DOI 10.52368/2078-0109-2021-57-2-122-127. – EDN JJSVMU.
16. Зиннатов, Ф.Ф. Выявление полиморфизма гена пролактина (PRL) у лактирующих коров / Ф.Ф. Зиннатов, И.И. Шаронова, Ф.Ф. Зиннатова, Д.Д. Хайруллин // Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны: Материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, Санкт-Петербург, 19–20 ноября 2020 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2020. – С. 149-150.
17. Лемякин, А.Д. Молочная продуктивность коров костромской породы комплексных генотипов GH/PRL / А.Д. Лемякин, Л.С. Баданина, К.Д. Чаицкая [и др.] // Вестник аграрной науки. – 2024. – № 3 (108). – С. 60-66. – DOI 10.17238/issn2587-666X.2024.3.60. – EDN MMBANW.
18. Сабетова, К.Д. Роль полиморфизма LEP R25C в предрасположенности коров к кетозу / К. Д. Сабетова, А. Д. Лемякин, А. А. Чаицкий [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 1. – С. 415-426. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.1.415. – EDN MWZUDC.
19. Самусенко, Л.Д. Скотоводство. Практикум : учебное пособие / Л.Д. Самусенко, А.В. Мамаев. — Санкт-Петербург : Лань, 2020. — 240 с. — ISBN 978-5-8114-5636-9. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: https://e.lanbook.com/book/146792.

REFERENCES

1. Vishnevets, A. V. The use of the molecular genetic marker prolactin (PRL-rsai) in the breeding of bulls of the Vitebsk Plant Enterprise / A.V. Vishnevets, R. V. Bekish, V. K. Smuneva, T. G. Yuzefovich // Scientific notes of the Vitebsk Educational Institution of the Order of the Badge of Honor State Academy of Veterinary Medicine. – 2012. – Vol. 48. – No. 2-2. - P. 29-32. (In Russ.)
2. Safina, N.Y. Influence of prolactin gene polymorphism (PRL) on dairy productivity of orphaned cows / N. Y. Safina, F. F. Zinnatova, E. R. Gainutdinova, S. K. Shakirov // Young scientists in solving urgent problems of science : Proceedings of the IX International Scientific and Practical Conference, Vladikavkaz, December 12-14, 2019. - Vladikavkaz: Vesta, 2019. - P. 225-228. – EDN OZSTLU. (In Russ.)
3. Ganzha, A. I. Association of prolactin gene polymorphism with indicators of dairy productivity of cows of the Holstein population of Belarusian breeding / A. I. Ganzha, N.V. Zhurina, O. P. Kurak [et al.] // Scientific support of animal husbandry in Siberia : proceedings of the III International Scientific and Practical Conference, Krasnoyarsk, May 16-17, 2019. -Krasnoyarsk: Krasnoyarsk

Scientific Research Institute of Animal Husbandry is a separate division of the Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Research Center "Krasnoyarsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences", 2019. - P. 105-108. - EDN BIIBAV. (In Russ.)
4. Akhmetova, A.N. Genetic structure of Holstein cattle in Kabardino-Balkaria by PRL and GH genes / A.N. Akhmetova, D. V. Khalishkhova, Z. I. Bogotova, A. C. Kuchmenov // Proceedings of the Kabardino -Balkarian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. – 2020. – No. 4(96). - P. 26-33. DOI 10.35330/1991-6639-2020-4-96-26-33. (In Russ.)
5. Mikhalyuk, A. N. Evaluation of the genetic structure of cows of the red Belarusian breed group, the Belarusian black-and-white breed and the Holstein breed of domestic dairy cattle by genes of diacylglycerol O-acyltransferase 1 (DGAT1), somatotropin (GH), prolactin (PRL) and beta-lactoglobulin (BLG) // Rural agriculture - problems and prospects : A collection of scientific papers. Vol. 56. - Grodno : Grodno State Agrarian University, 2022. - P. 140-150. (In Russ.)
6. Chevtaeva, N. D. The study of the association of the prolactin hormone (PRL) gene with the milk productivity of Holstein cows / N.D. Chevtaeva, F.F. Zinnatov, I.T. Bikchantaev // Agrarian Scientific Journal. – 2024. – No. 4. - P. 94-98. – DOI 10.28983/asj.y2024i4pp94-98. – EDN BMGFMW. (In Russ.)
7. Perchun, A. V. Polymorphism of csn3, bprl and BGH genes in Kostroma cows in connection with milk productivity / A.V. Perchun, I. V. Lazebnaya, S.G. Belokurov, M. N. Ruzina, G.E. Sulimova // Fundamental research. – 2012. – No. 11-2. - P. 304-308. (In Russ.)
8. Lazebnaya, I.V. Use of the Bovine Prolactin Gene (bPRL) for estimating genetic variation and milk production in aboriginal Russian breeds of Bos Taurus / I.V. Lazebnaya, O.E. Lazebny, S.R. Khatami, G.E. Sulimova // Prolactin, Edited by Gyorgy M. Nagy and Bela E. Toth. Rijeka: INTECH. – 2013. – P. 35- 52. (In Eng.)
9. Sabetova, K. D. According to J. Analysis of the frequency of occurrence of different genotypes of the prolactin gene in cows of the Kostroma breed / K.D. Sabetova, A.A. Chaitsky, P. O. Shchegolev // Increasing livestock production at the present stage : a collection of scientific papers based on the materials of the International Scientific and Practical Conference dedicated to the 95th anniversary of the Department of Private Animal Husbandry, Vitebsk, November 02-04, 2022. Vitebsk: Vitebsk Educational Institution of the Order of the Badge of Honor, State Academy of Veterinary Medicine, 2022, pp. 70-73. (In Russ.)
10. Tarasova, E. I. Marker genes of productive characteristics of dairy cattle (review) / E. I. Tarasova, S. V. Notova // Animal husbandry and feed production. – 2020. - Vol. 103. – No. 3. - P 58-80. (In Russ.)
11. Pogorelsky, I. A. Polymorphism of beta-lactoglobulin, growth hormone and prolactin genes and the effect of their genotypes on dairy productivity of cows / I. A. Pogorelsky, G.N. Serdyuk, M. V. Pozovnikova // Dairy and beef cattle breeding. – 2014. – No. 6. - P. 9-13. (In Russ.)
12. Dolmatova, I. Yu. The relationship of polymorphic genes of prolactin and somatotropin in cattle with dairy productivity / I. Yu. Dolmatova, I. N. Ganieva, T. V. Kononenko, F. R. Valitov // Bulletin of the Bashkir State Agrarian University. – 2020. – No. 1 (53). - P. 70-78. (In Russ.)
13. Tyulkin, S. V. Polymorphism by genes of somatotropin, prolactin, leptin, thyroglobulin bulls / S. V. Tyulkin, T.M. Akhmetov, E. F. Valiullina, R. R . Wafin // Vavilovsky Journal of Genetics and Breeding. – 2012. - Vol. 16. – No. 4-2. - P. 1008-1012.
14. Bagal, I. E. Polymorphism of genes of milk proteins and hormones in cows of the highest breeding group of the Kholmogorsky breed : dissertation... Candidate of Biological Sciences: 02/06/07 / Bagal Irina Evgenievna; [place of defense: All-Russian Scientific- research. institute of Breeding]. - Lesnye Polyany, 2017. 152 p. ill. : ill. (In Russ.)
15. Mikhalyuk, A. N. The influence of pro-

lactin (PRL) and beta-lactoglobulin (BLG) genes on the milk productivity of cows of the highly holstein Belarusian black-and-white breed / A. N. Mikhalyuk, L. A. Tanana, O. A. Epishko // Scientific notes of the Vitebsk Educational Institution of the Order of the Badge of Honor State Academy of Veterinary Medicine. – 2021. - Vol. 57, No. 2. - P. 122-127. – DOI 10.52368/2078-0109-2021-57-2-122-127. – EDN JJSVMU. (In Russ.)

16. Zinnatov, F. F. Identification of prolactin gene polymorphism (PRL) in lactating cows / F. F. Zinnatov, I. I. Sharonova, F. F. Zinnatova, D. D. Khairullin // Knowledge of the young for the development of veterinary medicine and the agro-industrial complex of the country: Proceedings of the international scientific conference of students, postgraduates and young scientists, St. Petersburg, November 19-20, 2020. Saint Petersburg: Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2020, pp. 149-150. (In Russ.)

17. Lemyakin, A. D. According to J. Dairy productivity of Kostroma breed cows of complex genotypes GH / PRL / A. D. Lemyakin, L. S/ Badanina, K. D. Chaickaya [et al.] // Bulletin of Agrarian Science. – 2024. – №3(108). - P. 60-66. – DOI 10.17238/issn2587-666X.2024.3.60. – EDN MMBANW. (In Russ.)

18. Sabetova, K. D. The role of LEP R25C polymorphism in the predisposition of cows to ketosis / K. D. Sabetova, A. D. Lemyakin, A. A. Chaitsky [et al.] // International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2024. - No. 1. - P. 415-426. - DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.1.415. - EDN MWZUDC.

19. Samusenko, L. N. According to J. Cattle breeding. Practicum: a textbook / L. D. Samusenko, A. V. Mamaeva. -Saint Petersburg : Lan, 2020. - 240 p. ill. — ISBN 978-5-8114-5636-9. -Text : electronic // Lan : electronic library system. — URL: https://e.lanbook.com/book/146792. (In Russ.)

УДК: 636.5.034
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.578

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ ЯИЦ КУР ГЕНОФОНДНЫХ ПОРОД И ПРОМЫШЛЕННОГО КРОССА

Станишевская О.И.* – д-р биол. наук, гл. науч. сотр. лаборатории научного обеспечения сохранения генетических ресурсов птиц Национального центра генетических ресурсов сельскохозяйственных животных (ORCID 0000-0001-9504-3916); **Федорова Е.С.** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории научного обеспечения сохранения генетических ресурсов птиц Национального центра генетических ресурсов сельскохозяйственных животных (ORCID 0000-0001-1618-6271); **Силюкова Ю.Л.** – канд. биол. наук, науч. сотрудник лаборатории научного обеспечения сохранения генетических ресурсов птиц Национального центра генетических ресурсов сельскохозяйственных животных (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» (ВНИИГРЖ)

* olgastan@list.ru

Ключевые слова: *куры, генофондные породы, качество яиц, желток, энергетическая ценность.*

Keywords: *chickens, gene pool breeds, egg quality, yolk, energy value.*

Финансирование: *исследования проведены в рамках выполнения работ по Программе развития Национального центра генетических ресурсов сельскохозяйственных животных.*

Поступила: 15.06.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Локальные породы являются резервуаром уникальных генов, утраченных в промышленных кроссах. Одним из важнейших экономически-значимых признаков у кур является качество яиц. Согласно зарубежным и отечественным исследованиям, яйца кур локальных пород, с точки зрения питательной ценности, имеют преимущество перед яйцами кур промышленных кроссов. Целью исследований было провести сравнительный анализ ряда качественных показателей (включая питательную ценность) яиц кур генофондных пород отечественной селекции и коммерческих кроссов. Исследования проведены в рамках ежегодного мониторинга генетических ресурсов кур Национального центра генетических ресурсов сельскохозяйственных животных во ВНИИГРЖ. Объект исследования – яйца кур генофондных пород: русская белоснежная (яичная), полтавская глинистая (двойного назначения), орловская ситцевая (двойного назначения), а также яйца кур промышленного белоскорлупного яичного кросса категории С1 (фаза яйцекладки II). Были оценены следующие показатели качества яиц: масса яйца, индекс фор-

мы и масса желтка с использованием системы оценки качества яйца Broring EggQuality 3.0 (Германия). Яйца отечественных генофондных пород кур, в сравнении с птицей промышленных яичных кроссов, обладают более высокой питательной и энергетической ценностью яиц (на 4,8–17,3% выше) за счет более высокого содержания в них желтка ($p<0,05$). У промышленной птицы наибольшая частота встречаемости признака «величина желтка» находится в пределах 25 – 28% (88% поголовья), в то время как у генофондных пород чаще всего встречаются куры с высокой долей желтка в яйце: 30 – 32% у русской белоснежной (58% поголовья), 30 – 33% у полтавской глинистой (62% поголовья) и 34 – 38% у орловской ситцевой (76% поголовья). Генофондные куры обладают более высокой степенью изменчивости признака «величина желтка яиц» (Cv 6,5 – 7,3%) в сравнении с промышленной птицей (Cv 3,7%), что позволяет вести отбор с целью оптимизации данного показателя.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Сохранение генетического разнообразия сельскохозяйственных животных, включая птиц, является признанной общемировой задачей. Локальные породы являются резервуаром генов для селекции будущего, причем как при использовании методов классической селекции, так и при использовании молекулярно-генетических методов, включая методы генной инженерии.

При разработке стратегии сохранения локальных пород, в том числе пород кур, необходимо уделить большое внимание их характеристикам, проведению скрининга пород на предмет экономически-значимых признаков и степени генетической дивергенции для определения приоритетов сохранения. Сохранения только лишь экстерьерных, морфологических породных признаков недостаточно.

Одним из важнейших экономически-значимых признаков у кур является качество яиц. Куриные яйца традиционно являются важнейшим источником питательных веществ для человека, источником полноценного легкоусвояемого протеина, ряда жирных кислот, витаминов и микроэлементов. Кроме того, яйца обладают рядом биологических свойств, делающих их пригодными для использования в качестве сырья для фармацевтической, косметической и пищевой промышленности [1]. В связи с растущим во всем мире производством и потреблением сухих и жидких яйцепродуктов, большое значение приобретают такие качественные показатели яиц, как величина желтка, содержание сухих веществ, прочность вителлиновой мембраны желтка и др. [2]. С этой точки зрения локальные породы кур выгодно отличаются от промышленных, у которых в результате интенсивной селекции на повышение яйценоскости и массы яиц, улучшение конверсии корма, многие качественные показатели оказались на втором плане. Достаточно сказать, что относительная масса желтка яиц кур промышленных кроссов уменьшилась до 23 – 28%, при этом у кур локальных пород она составляет 30 – 33% [3].

Изучением качественных показателей яиц кур старых локальных пород в сравнении с показателями яиц современных промышленных кроссов занимается на протяжении многих лет значительное число лабораторий по всему миру. Так, научный коллектив из двух университетов Бельгии провел сравнительное исследование качества яиц локальных бельгийских пород Ardennaise и Famennoise и коммерческих линий CoqArd и ISA Brown [4]. Были получены значительные высоко достоверные различия по содержанию желтка в яйцах (масса желтка/масса яйца, %). Яйца кур местных пород содержали 30,0-33,4% желтка, яйца кур промышленных линий только 26,7-28,6% при одинаковых условиях содержания и кормления и равном возрасте.

Аналогичные исследования были проведены в Португалии на местных породах Branca, Amarela, Pedrês Portuguesa и Preta Lusitânica и промышленном гибриде Tetra Brown [5]. Содержание желтка в яйцах локальных пород кур составило от 32,46% до 34,35%; в яйцах промышленного гибрида – 25,17%. Испанские исследо-

ватели провели оценку не только физических показателей яиц локальной белоскорлупной породы Black Castellana в сравнении с яйцами кур промышленной линии Lohmann LSL-Classic при одинаковом рационе и стадии яйцекладки, но и оценили химический состав желтка. Желтки яиц кур породы Black Castellana содержали в сухом веществе меньше жира (57,5 против 60,8%) и больше белка (32,8 против 31,9%); больше холекальциферола (1,25 против 1,22 мкг/г), а также показали более низкую долю насыщенных жирных кислот (29,0 против 37,0%) и более высокую долю мононенасыщенных (45,7 против 39,6%) и полиненасыщенных (25,2 против 23,4%) жирных кислот. При этом затраты корма на единицу массы яиц практически были одинаковы, различия в составе желтка объясняются различиями в использовании питательных веществ корма. Этот пример наглядно демонстрирует преимущества яиц кур локальной породы, с точки зрения питательной ценности, перед яйцами кур промышленной линии [6].

Коллективом ученых из Японии было проведено подробное сравнительное исследование аминокислотного состава желтка и белка яиц кур локальных японских пород Nagoya and Yakido и промышленного кросса Boris Brown [7]. Было оценено содержание 14-ти аминокислот в желтке и 8-ми аминокислот в белке и установлены значительные межпородные различия по этим показателям. Авторами было высказано предположение [8], что именно аминокислотный состав яиц влияет на их вкусовые качества.

Что касается отечественных пород кур, то исследований подобного рода немного. Сулейманов Ф.И. с соавт. [9] оценили качество яиц четырех отечественных генофондных пород (загорской лососевой, первомайской, полтавской и юрловской голосистой) по показателям массы яиц, индексу формы, упругой деформаци скорлупы, плотности яиц и установили ряд межпородных различий. Джагаев А.Ю. с соавт. [10] провели морфометрический анализ яиц кур пород русская белая и корниш. Были установлены межпородные различия по следующим показателям: индексу формы, качеству скорлупы, доли желтка, индексу желтка и белка, единицам Хау, прочности вителлиновой мембраны.

Шабанова С.А. с соавт. провели сравнительную оценку качества яиц кур генофондных пород отечественной (загорская лососевая, ушанка, юрловская голосистая) и зарубежной (австралорп черный, нью-гемпшир, суссекс светлый) селекции [11]. Установлена межпородная изменчивость по таким показателям, как масса яиц, индекс формы, качество скорлупы, доля желтка, качество белка, единицы Хау. Можно привести ещё ряд аналогичных примеров, но все они не содержат информации о преимуществе кур генофондных пород в сравнении с курами промышленных кроссов по качественным характеристикам яиц, которое послужило бы аргументом в пользу их сохранения.

В связи с этим, целью наших исследований было провести сравнительный анализ ряда качественных показателей (включая питательную ценность) яиц кур генофондных пород отечественной селекции и коммерческих кроссов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проведены в рамках ежегодного мониторинга генетических ресурсов кур Национального центра генетических ресурсов сельскохозяйственных животных 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 исследования – яйца кур генофондных пород в возрасте 50 недель жизни: русская белоснежная (яичное направление продуктивности, специализированная для целей биопромышленности), полтавская глинистая (комбинированное направление продуктивности), орловская ситцевая (комбинированное направление продук-

тивности), а также яйца кур промышленного белоскорлупного яичного кросса категории С1, оптимальной для формирования групп-аналогов по массе яиц.

Куры генофондных пород и промышленного белоскорлупного кросса находились во II фазе яйцекладки (46 – 65 недель жизни), продолжительность освещения составила 14 часов, кормление осуществлялось сухими полнорационными комбикормами с содержанием 16,0% сырого протеина и 260 – 265 ккал обменной энергии на 100 г комбикорма.

Были оценены следующие показатели качества яиц: масса яйца, индекс формы и масса желтка с использованием системы оценки качества яйца Broring EggQuality 3.0 (Германия). Относительную величину желтка яиц выражали в процентах от массы яйца. Энергетическую питательную ценность яиц (на 100 г яичной массы) вычисляли по формуле [12]:

Ец = (16Мж + 2Мб) Х 100 Х 0,2388 / (Мя – Мск), где:

Ец – энергетическая ценность яйца, Ккал/100г;

Мж – масса желтка, г; Мб – масса белка, г;

Мя – масса яйца, г; Мск – масса скорлупы, г

Полученные данные обрабатывали с помощью статистического редактора MicrosoftExcel

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате проведенных исследований было установлены межпородные различия по качественным характеристикам яиц и их питательной ценности (табл. 1). Яйца кур генофондных пород практически не различались по индексу формы, значение которого находилось в оптимальном (72 – 76) диапазоне [13]. Наименьшей величиной желтка и, соответственно, энергетической ценностью, характеризовались яйца, полученные от кур русской белоснежной породы, созданной на основе скрещивания петухов белого леггорна с местными русскими курами. Наибольшей питательной ценностью, за счет максимального содержания желтка, обладали яйца кур орловской породы. Однако масса таких яиц была низкой и соответствовала весовой категории не выше С2.

Таблица 1 – Качественные показатели яиц кур генофондных пород в сравнении с яйцами кур промышленного яичного кросса (фаза яйцекладки II)

Показатель	Порода кур			
	Русская белоснежная	Полтавская глинистая	Орловская ситцевая	Промышленный кросс
Число яиц, шт.	111	88	87	30
Масса яйца, г	61,1 ± 4,2	61,9 ± 4,6	50,7 ± 4,0	63,0 ± 2,6
Индекс формы	74,7[a] ± 2,7	73,2[a] ± 2,7	74,7 ± 3,1	80,6[b] ± 1,2
Масса желтка, г Cv, %	17,6 ± 1,4 8,0	19,2 ± 1,7 8,9	17,8 ± 1,4 7,9	16,9 ± 1,1 6,5
Масса желтка, % от массы яйца Cv, %	28,8 ± 1,9 6,5	31,1 ± 2,2 7,3	35,2[c] ± 2,2 6,8	26,8[d] ± 1,0 3,7
Энергетическая ценность, ккал/100 г Cv, %	154,9 ± 7,0 + 4,8% 4,5	163,2[a] ± 7,5 + 9,7% 5,2	178,3[c] ± 7,9 + 17,3% 5,0	147,4[b] ± 3,8 3,6

Примечание: различия статистически значимы: a,b при p < 0,05, c,b и c,d при p < 0,001.

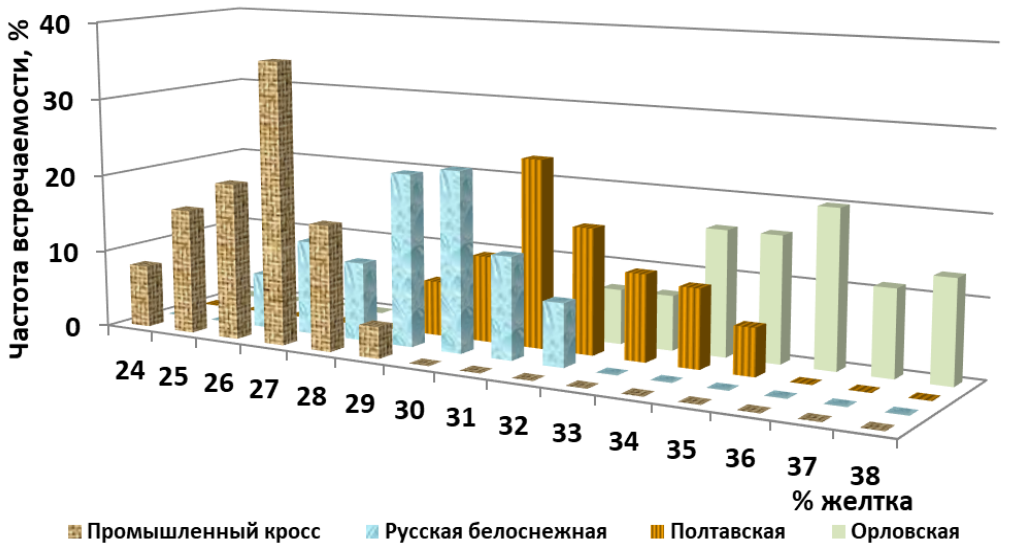


Рисунок 1 – Распределение кур генофондных пород и яичного промышленного кросса по частоте встречаемости относительной величины желтка в яйце.

Яйца кур промышленного яичного кросса, в сравнении с генофондной птицей, при сопоставимой массе яиц, характеризовались более высоким показателем индекса формы ($p<0,05$), а также более низким уровнем содержания желтка в яйце ($p<0,001$) и энергетической ценности на 100 г яйцемассы (на 4,8 – 17,3% ниже).

Как следует из рис.1, у промышленной птицы наибольшая частота встречаемости признака соответствует низкому значению величины желтка в пределах 25 – 28% (88% поголовья), в то время как у генофондных пород чаще всего встречаются куры с высокой долей желтка в яйце: 30 – 32% у русской белоснежной (58% поголовья), 30 – 33% у полтавской глинистой (62% поголовья) и 34 – 38% у орловской ситцевой (76% поголовья).

Более высокой изменчивостью признака «величина желтка яиц» как в абсолютных, так и в относительных величинах, обладают куры генофондных пород (Cv 6,5 – 7,3%) в сравнении с промышленной птицей (Cv 3,7%) (табл. 1). Это позволяет проводить отбор по данному показателю с целью его оптимизации, поскольку: мелкий желток яиц снижает их питательную ценность, а слишком крупный – увеличивает затраты корма на производство 1 кг яйцемассы.

Одним из факторов, ограничивающих широкое использование кур генофондных пород для получения яиц, является их сравнительно невысокая яичная продуктивность (более позднее начало яйцекладки, меньшая ее продолжительность и стабильность в сравнении с промышленной птицей), что в совокупности со сравнительно высокими затратами корма оказывает отрицательное влияние на стоимость конечного продукта. В настоящее время одним из путей сохранения генофондных пород и использования их уникальных качественных характеристик получаемой продукции, является скрещивание генофондных пород кур с линиями кур промышленных кроссов. Это является современной мировой тенденцией в классической селекции для охвата нишевых рын-

ков региональных предпочтений [14, 15], направленная на улучшение хозяйственно -полезных признаков у гибридных кур (снижение возраста снесения первого яйца, повышение массы яиц, яйценоскости и продолжительности плато кладки) за счет эффекта гетерозиса при сохранении адаптационных способностей и качественных характеристик яиц, присущих локальной породе в составе гибридной формы [16, 17]. В нашей стране данное направление в селекции птицы пока еще не нашло широкого распространения, но имеет большой потенциал благодаря развивающемуся сегменту рынка органической и обогащенной продукции и наличию широкого спектра отечественных пород с высокими качественными показателями яиц.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Согласно проведенным исследованиям, яйца отечественных генофондных пород кур, в сравнении с птицей промышленных яичных кроссов, обладают более высокой питательной и энергетической ценностью яиц (на 4,8 – 17,3% выше) за счет более высокого содержания в них желтка ($p<0,05$). Выводы согласуются с результатами зарубежных исследований, проведенных на курах автохтонных пород и промышленных кроссов, доказывающих преимущества локальных пород по качественным характеристикам яиц.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE CHICKEN EGGS ENERGY VALUE OF GENE POOL BREEDS AND COMMERCIAL LAYING CROSS

Stanishevskaya O.I.* – Doctor of Biology Science, Chief Researcher at the Laboratory of Scientific Support for the Conservation of Avian Genetic Resources of the National Center for Farm Animal Genetic Resources (ORCID 0000-0001-9504-3916); **Fedorova E.S.** – PhD, Senior Researcher at the Laboratory of Scientific Support for the Conservation of Avian Genetic Resources of the National Center for Farm Animal Genetic Resources (ORCID 0000-0001-1618-6271); **Silyukova Yu.L.** – PhD, Researcher at the Laboratory of Scientific Support for the Conservation of Avian Genetic Resources of the National Center for Farm Animal Genetic Resources (ORCID 0000-0003-1905-6373).

Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding — Branch of the L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry (RRIFAGB)

* olgastan@list.ru

Funding: *the research was carried out as part of the work under the Development Program of the National Center for Genetic Resources of Farm Animals.*

ABSTRACT

Local breeds are a reservoir of unique genes lost in commercial crosses. One of the most important economically significant features of chickens is the quality of eggs. According to world scientific researches, eggs of local breeds of chickens, in terms of nutritional value, are superior to chickens of industrial crosses. The purpose of the research was to conduct a comparative analysis of a number of qualitative indicators (including nutritional value) of chicken eggs of Russian gene-pool breeds and commercial laying crosses. The research was conducted as part of the annual monitoring of the genetic resources of chickens by the National Center for Genetic Resources of Farm Animals at RRIFAGB. The object of the study is eggs of gene pool breeds: Russian Snow–White (laying breed), Poltava Clay (dual-purpose breed), Orloff (dual-purpose breed), as well as eggs of commercial white-shell laying cross (eggs' class 1; in laying Phase II). The following egg quality indicators were evaluated: egg weight, shape index and yolk weight using the egg quality assessment system Broring EggQuality 3.0 (Germany). Eggs of Russian gene pool breeds, in comparison with commercial laying crosses, have a higher nutritional and energy value of eggs (4.8–17.3% higher) due to their higher yolk value ($p<0.05$). In commercial poultry, the highest frequency of the "yolk size" trait is in the range of 25-28% (88% of the population), while in gene pool breeds chickens

with a high proportion of yolk in the egg are most often found: 30-32% in the Snow–White Russian (58% of the population), 30-33% in Poltava Clay (62% of the population) and 34-38% of the Orloff (76% of the population). Gene pool chickens have a higher degree of variability in the "egg yolk size" trait (Cv 6.5 – 7.3%) compared to industrial poultry (Cv 3.7%), which allows for selection in order to optimize this indicator.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Hartmann C, Wilhelmson M. The hen's egg yolk: a source of biologically active substances. World's Poultry Science Journal. 2001;57(1):13-28. doi:10.1079/WPS20010003 .
2. Damaziak K, Marzec A, Kieliszek M, Bucław M, et.al. Comparative analysis of structure and strength of vitelline membrane and physical parameters of yolk of ostrich, emu, and greater rhea eggs. Poultry Science. 2018;97(3):1032-1040. doi:10.3382/ps/pex356.
3. Федорова Е.С. Диаметр желтка куриных яиц как селекционный критерий для повышения их пищевой и энергетической ценности / Е.С. Федорова, О.И. Станишевская // Генетика и разведение животных. - 2015. - №1. – С. 21-25.
4. Moula N, Antoine-Moussiaux N, Decuypere E, et.al. Comparative study of egg quality traits in two Belgian local breeds and two commercial lines of chickens. European Poultry Science. 2010;74(3):164-171. doi:10.1016/S0003-9098(25)00814-8.
5. Lordelo M, Cid J, Cordovil CMDS, Alves SP, et.al. A comparison between the quality of eggs from indigenous chicken breeds and that from commercial layers. Poultry Science. 2020;99(3):1768-1776. doi:10.1016/j.psj.2019.11.023.
6. Romero C, Yustos JL, Sánchez-Román I, et.al. Assessment of performance and egg quality in laying hens of Spanish indigenous breed Black Castellana as compared with a selected white egg-layer strain. Poultry Science. 2024;103(10):104096. doi:10.1016/j.psj.2024.104096.
7. Goto T, Ohya K, and Takayay M. Genotype affects free amino acids of egg yolk and albumen in Japanese indigenous breeds and commercial Brown layer chickens. Poultry Science. 2022;101:101582. doi:10.1016/j.psj.2021.101582.
8. Contribution of peptides and amino acids to the taste of foods. Kirimura J, Shimizu A, Kimizuka A, et.al. J. Agric. Food Chem. 1969;17(4):689–695
9. Сулейманов Ф.И. Влияние морфометрических и биофизических показателей куриных яиц на результаты инкубации / Ф.И. Сулейманов, Е.И. Степанова, М.И. Челнокова // Известия Великолукской государственной сельскохозяйственной академии. - 2021. – Вып. 36. - № 3. - С. 33-41.
10. Джагаев А. Ю. Сравнительный анализ морфометрических показателей яиц кур разных генотипов / А. Ю. Джагаев, А.Н. Ветох, Э. Р. Ильина // Вестник Ульяновской ГСХА. - 2022. – Вып. 59. - №3. – С. 175-180. doi:10.18286/1816-4501-2022-3-175-180
11. Шабанова С. А. Инкубационные качества яиц генофондных пород / С. А. Шабанова, А. Г. Бычаев // В сборнике: Научное обеспечение развития АПК в условиях импортозамещения. Сборник научных трудов Международной научно-практической конференции. – 2022. С. 139-143.
12. Хвостик В.П. Морфологічні ознакиясць курей вітчизняної та зарубіжної селекції / В.П. Хвостик, О.А. Катеринич, С.М. Панькова // Птахівництво. - 2013. - Вып. 70. - С.34-42.
13.Технология инкубации яиц сельскохозяйственной птицы (Методические наставления) / под ред. В.И.Фисинина. Сергиев Посад: ВНИТИП, 2011. 85 с.
14. Ni A, Calus MPL, Bovenhuis H, et.al. Genetic parameters, reciprocal cross differences, and age-related heterosis of egg-laying performance in chickens. Genet Sel Evol. 2023;55(1):87.
15. Wang Y, Sun Y, Ni A, et.al. Research Note: Heterosis for egg production and oviposition pattern in reciprocal crossbreeds of indigenous and elite laying chickens. Poult Sci. 2022;101(12):102201.
16. Mesele TL. Reproduction and production

performance of improved chickens, their production constraints, and opportunities under Ethiopian conditions. Trop Anim Health Prod. 2023;55(4):245.
17. Soliman MA, Khalil MH, El-Sabrout K, et.al. Crossing effect for improving egg production traits in chickens involving local and commercial strains, Veterinary World. 2020;13(3): 407-412.

REFERENCES

1. Hartmann C, Wilhelmson M. The hen's egg yolk: a source of biologically active substances. World's Poultry Science Journal. 2001;57(1):13-28.
2. Damaziak K, Marzec A, Kieliszek M, Bucław M, et.al. Comparative analysis of structure and strength of vitelline membrane and physical parameters of yolk of ostrich, emu, and greater rhea eggs. Poultry Science. 2018;97(3):1032-1040.
3. Fedorova E.S. Yolk diameter of chicken eggs as a selection criterion for increasing their nutritional and energy value / E.S. Fedorova, O.I. Stanishevskaya // Genetics and animal breeding. - 2015. - No. 1. – P. 21-25.
4. Moula N, Antoine-Moussiaux N, Decuypere E, et.al. Comparative study of egg quality traits in two Belgian local breeds and two commercial lines of chickens. European Poultry Science. 2010;74(3):164-171. doi:10.1016/S0003-9098(25)00814-8.
5. Lordelo M, Cid J, Cordovil CMDS, Alves SP, et.al. A comparison between the quality of eggs from indigenous chicken breeds and that from commercial layers. Poultry Science. 2020;99(3):1768-1776.
6. Romero C, Yustos JL, Sánchez-Román I, et al. Assessment of performance and egg quality in laying hens of Spanish indigenous breed Black Castellana as compared with a selected white egg-layer strain. Poultry Science. 2024;103(10):104096.
7. Goto T, Ohya K, and Takayay M. Genotype affects free amino acids of egg yolk and albumen in Japanese indigenous breeds and commercial Brown layer chickens. Poultry Science. 2022;101:101582.
8. Contribution of peptides and amino acids to the taste of foods. Kirimura J, Shimizu A, Kimizuka A, et al. J. Agric. Food Chem. 1969;17(4):689–695.
9. Suleimanov FI. Influence of morphometric and biophysical parameters of chicken eggs on incubation results / FI Suleimanov, EI Stepanova, MI Chelnokova // Bulletin of the Velikiye Luki State Agricultural Academy. - 2021. - Issue 36. - No. 3. - P. 33-41.
10. Dzhagaev A. Yu. Comparative analysis of morphometric parameters of eggs of hens of different genotypes / A. Yu. Dzhagaev, A. N. Vetokh, E. R. Ilyina // Bulletin of the Ulyanovsk State Agricultural Academy. - 2022. - Issue. 59. - No. 3. - Pp. 175-180.
11. Shabanova S. A. Incubation qualities of eggs of gene pool breeds / S. A. Shabanova, A. G. Bychaev // In the collection: Scientific support for the development of the agro-industrial complex in the context of import substitution. Collection of scientific papers of the International scientific and practical conference. - 2022. Pp. 139-143.
12. Khvostik V.P. Morphological Familiarization of Chickens of Domestic and Foreign Breeding / V.P. Khvostik, O.A. Katerinich, S.M. Pankova // Ptakhivnitstvo. - 2013. - Issue 70. - Pp. 34-42.
13. Technology of Incubation of Poultry Eggs (Methodological Instructions) / edited by V.I. Fisinin. Sergiev Posad: VNITIP, 2011. 85 p.
14. Ni A, Calus MPL, Bovenhuis H, et.al. Genetic parameters, reciprocal cross differences, and age-related heterosis of egg-laying performance in chickens. Genet Sel Evol. 2023;55(1):87.
15. Wang Y, Sun Y, Ni A, et.al. Research Note: Heterosis for egg production and oviposition pattern in reciprocal crossbreeds of indigenous and elite laying chickens. Poult Sci. 2022;101(12):102201. doi: 10.1016/j.psj.2022.102201.
16. Mesele TL. Reproduction and production performance of improved chickens, their production constraints, and opportunities under Ethiopian conditions. Trop Anim Health Prod. 2023;55(4):245.
17. Soliman MA, Khalil MH, El-Sabrout K, et.al. Crossing effect for improving egg production traits in chickens involving local and commercial strains, Veterinary World. 2020;13(3): 407-412.

ХИРУРГИЯ

УДК: 619:616
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.586

КЛИНИЧЕСКОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ И ЛЕЧЕНИЕ ОРОНАЗАЛЬНОЙ ФИСТУЛЫ У СОБАК (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ)

Спирина А.С. *[1] – канд. ветеринар. наук, доц. каф. ветеринарной интернатуры, зав.каф. «Ветеринарная стоматология и ЧЛХ» (ORCID 0000-0002-1972-125X); **Бычков В.С.**[1,2] – канд. ветеринар. наук, доц. каф. биоэкологии и биологической безопасности, интерн каф. «Интернатура» (ORCID 0000-0003-1548-9999); **Корчнева Т.В.**[1] – канд. с.-х. наук, доц., интерн каф. «Интернатура» (ORCID 0009-0001-0806-4469); **Красников А.В.**[1,3] – д-р ветеринар. наук, проф., проф. каф. "Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза", интерн каф. «Интернатура» (ORCID 0000-0002-4127-8725); **Кречуняк М.П.**[1] – интерн каф. «Интернатура» (ORCID 0009-0006-6132-3286)

[1] ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет»
[2] ФГБОУ ВО Российский биотехнологический университет
[3] ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова»

* twins_anna@mail.ru

Ключевые слова: *Ороназальная фистула. Осложнения пародонтита. Послеоперационные осложнения. Клинический случай.*

Key words: Oronasal fistula. Complications of periodontitis. Postoperative complications. Clinical case.

Поступила: 08.10.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Приобретённая ороназальная фистула (ОНФ) - аномальное сообщение между ротовой и носовой полостями, вызванное травмой или заболеванием пародонта. Согласно литературным данным, ОНФ является одной из наиболее часто встречаемых патологий ротовой полости у собак, распространённость которой составляет 3,1%. В материалах описан хирургический способ лечения ороназальной фистулы у собаки породы такса, а также этиологические аспекты, приводящие к несостоятельности швов операционной раны с формированием повторной фистулы и необходимости реоперации. Цель исследования – на примере клинического случая устранения ороназальной фистулы у собаки породы такса дать оценку фактору значимо-

сти алгоритма терапевтических рекомендаций как этиологическому аспекту профилактики послеоперационных осложнений данной патологии. В ветеринарную клинику «Денталвет» (г.Москва) на стоматологическое обследование поступила собака породы такса, кобель, возраст 10 лет. Владельцы предъявляли жалобы на частое чихание, ринит, трение морды лапами, галитоз, снижение аппетита и активности собаки. При осмотре ротовой полости обнаружено значительное количество зубного камня, признаки пародонтита нескольких зубов и ороназальной фистулы в области 204 зуба. Под общей анестезией было выполнено комплексное стоматологическое обследование и лечение, результаты которых были внесены в стоматологическую карту. Выявлены изменение цвета и текстуры десен, отек и гиперемия, повышенная кровоточивость при зондировании, наличие рецессий, ороназальная фистула в области 204 зуба. Выполнена серия интраоральных рентгенограмм, санация ротовой полости, экстракция больных зубов, ороназальная цистотомия в области 204 зуба и устранение дефекта методом однослойного лоскута. На 7-й день после операции при визуальном осмотре ротовой полости было выявлено нарушение целостности послеоперационных швов на десне в области 204 зуба после его экстирпации. Этиологическим фактором несостоятельности послеоперационных швов послужило невыполнение владельцем животного послеоперационных рекомендаций. Для устранения образовавшегося дефекта в последующем была произведена ревизия раны с повторной пластикой слизистого лоскута. На четырнадцатый день после повторного хирургического вмешательства клинически отмечалась регенерация тканей с образованием на месте первичного контакта рубцового регенерата без признаков воспалительной реакции. Ороназальная фистула является распространённой оральной патологией у собак, возникающей при деструктивных процессах в периодонте и костных структурах верхней челюсти у собак вследствие снижения репаративных процессов и лизисе костных структур. Для предупреждения развития данной патологии требуется комплексный диагностический подход по раннему выявлению этиологических факторов. При развитии выраженного патологического процесса и образовании ороназальной фистулы требуется проведение хирургического лечения. Важным условием успешного итога лечения является неукоснительное выполнение владельцами животных рекомендаций по постоперационному лечению и ограничениям. Несоблюдение владельцами рекомендаций может привести к осложнениям, в частности, нарушению целостности швов послеоперационной раны и необходимости проведения повторной операции. Для профилактики низкой комплаентности требуется информирование владельцев животных о необходимости выполнения послеоперационных рекомендаций и последствиях их нарушений.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Приобретённая ороназальная фистула (ОНФ) - аномальное сообщение между ротовой и носовой полостями, вызванное травмой или заболеванием либо возникающее после неудачной операции по устранению расщелины нёба [1].

Актуальность. Согласно литературным данным, ОНФ является одной из наиболее часто встречаемых патологий ротовой полости у собак, распространённость которой составляет 3,1%. [2]. Обычно ОНФ наблюдаются у пожилых, мелких и принадлежащих к хондродистрофическим породам собак (особенно у такс); однако они могут развиваться у собак или кошек любых пород. Также, мелкие долихоцефалические породы, такие как той- и карликовые пудели и миниатюрные таксы, по-видимому, предрасположены к развитию тяжелой вертикальной потере костной массы на палатальной поверхности верхнечелюстных клыков [1,3,4,5].

Цель исследования – на примере клинического случая устранения ороназальной фистулы у собаки породы такса дать оценку фактору значимости алгоритма терапевтических рекомендаций как этиологическому аспекту профилактики послеоперационных осложнений данной патологии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В ветеринарную клинику «Денталвет» обратились с собакой породы такса, кобель, возраст 10 лет. Владельцы предъявляли жалобы на частое чихание, ринит, трение морды лапами, галитоз, снижение аппетита и активности собаки.

Общий клинический и биохимический анализы крови проводились в лаборатории «Веттест» (Москва, Россия) на автоматическом биохимическом анализаторе Tecom TC6090, автоматическом гематологическом анализаторе 3 diff для ветеринарии TEK-VET3 (Shenzhen Tecom Biotech Co., Ltd., Китай). Эхокардиографическое исследование с доплером проводилось на УЗ-аппарате Mindray DC-50 (Китай) секторным фазированным монокристаллическим датчиком Mindray SP5-1N (Китай). Для выполнения экстра- и интраоральной рентгенографии использовались: портативный высокочастотный интраоральный рентгеновский аппарат PORT-X II (GENORAY (Ю. Корея), оцифровщик рентгеновских снимков CR7Vet с люминоформными пластинами (4,5) (DÜRR MEDICAL Vet-Examplus, Германия). Оборудование для мониторинга включало ветеринарный монитор пациента Mindray uMEC12 Vet Basic (Китай). Для премедикации использовали диазепам (2 мг/кг) и прометазин (1 мг/кг) внутримышечно. В правую грудную конечность (vena cephalica) установлен катетер 24-G. Индукция - кетамина гидрохлорид (3мг/кг) и медетомидин (0,04 мг/кг). Во время операции внутривенно вводили сбалансированный раствор электролитов со скоростью 12 мл/кг/час. Общая анестезия поддерживалась изофлураном (1%) с низким потоком через эндотрахеальную трубку с манжетой № 4.5.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты общего клинического и биохимического анализов крови - в пределах физиологической нормы (для собаки данного возраста) и отражены в таблицах 1, 2. По заключению эхокардиографического исследования гемодинамических изменений не выявлено. В результате визуального и инструментального осмотров выявлены зубной камень, гингивит 2-3 степени, пародонтит нескольких зубов и ороназальная фистула в области 204 зуба с инородными предметами под десной (пародонтальная проба 10 мм) (рисунки 1,2).

Рентгенографически определялись вертикальная и горизонтальная резорбция костной ткани, снижение плотности и уменьшение высоты костной ткани (рисунок 3).

Была выполнена санация ротовой полости, экстракция больных зубов, в том числе верхнечелюстного левого клыка по стандартной методике [6,7,8,9], во время которой было визуализировано сообщение между ротовой и носовой полостями. Для закрытия выявленной хронической ороназальной фистулы в данном случае применялась методика однослойного лоскута с буккальной поверхности [7,9]. Был иссечён эпителий, выстилающий фистулу на палатальной поверхности. В альвеолярной и буккальной слизистой при помощи скальпеля № 15 были выполнены апикально расходящиеся разрезы. При помощи периостального элеватора был поднят мукопериостальный лоскут. У основания лоскута было выполнено иссечение надкостницы. Лоскут был мобилизован путём подслизистой диссекции, перемещен для укрытия дефекта и ушит прерывистым швом без натяжения к слизистой оболочке твёрдого нёба (рисунок 4).

Пациенту была назначена системная антибиотикотерапия, обработки ротовой полости раствором хлоргексидина 0,05% и гель с 0,12% хлоргексидином 2 раза в день 7 дней. Рекомендовано на время послеоперационного периода исключить возможность повреждения швов посторонними предметами (игрушки), а также использовать ограничительный воротник. Контроль состояния ротовой полости проводился с периодичностью 7 дней.

Таблица 1 – Результаты биохимического исследования крови собаки породы такса, кобель, возраст 10 лет

Показатель	Аббревиатура	Результат	Норма	Единицы
Мочевина	Urea	8.9	3 - 10.5	ммоль/л
Креатинин	Creat	120.6	60 - 140	мкмоль/л
Общий билирубин	T.bil	13.9	0.01 - 17	мкмоль/л
АСТ	AST	34.2	20 - 55	Е/л
АЛТ	ALT	20.9	5 - 69	Е/л
ЩФ	ALP	65	23 - 87	Е/л
Глюкоза	Glu	3.88	3.3 - 5.6	ммоль/л
Общий белок	TP	67.9	51 - 72	г/л
Альбумин	Alb	37,8	22 - 38	г/л
Глобулин	Glob	28,4	27 - 44	г/л
Альбумин/ Глобулин	A:G ratio	0,78	0.6 - 1.5	
Осмоляльность	Osm	292.32	280 - 320	мОсм/кг
Натрий	Na	145.0	140 - 150	ммоль/л
Калий	K	4.70	3.5 - 5.5	ммоль/л
Хлор	Cl	105.1	96 - 122	ммоль/л
Коэффициент Ритиса		1.54	0.75 - 1.6	

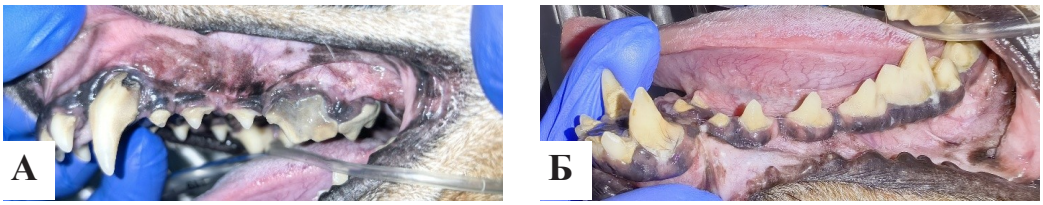


Рисунок 1 – Визуализация зубных отложений и клинических признаков пародонтита у собаки
а) – в области верхней челюсти; б) – в области нижней челюсти.

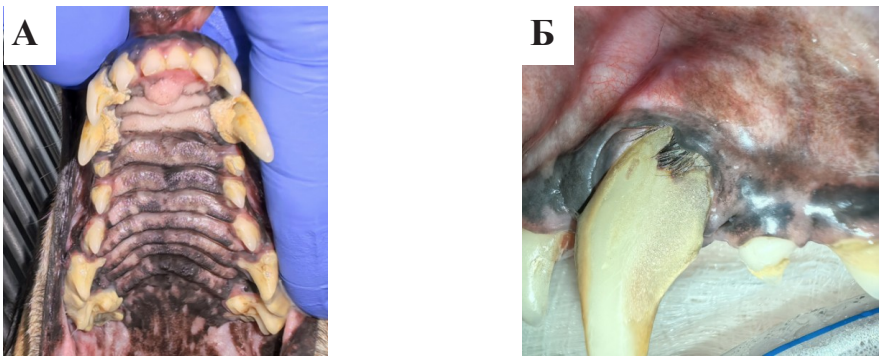


Рисунок 2 – Верхняя челюсть собаки с наличием зубных отложений
а) зубной камень; б) инородный предмет (шерсть) под десной 204 зуба.

Таблица 2 – Результаты общего (клинического) анализа крови собаки породы такса, кобель, возраст 10 лет

Показатель	Аббревиатура	Результат	Норма	Единицы
Эритроциты	RBC	5.95	5.5 - 8.5	x 10^{12}/л
Гемоглобин	HGB	170	120 - 180	г/л
Гематокрит	HCT	40.6	37 - 55	%
Средний объем эритроцитов	MCV	68.24	60 - 77	Фл
Среднее содержание гемоглобина в эритроцитах	MCH	22	19.5 - 24.5	пикограмм
Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах	MCHC	350	320 - 360	г/л
Распределение эритроцитов в крови	RDW	15,1	14 - 19	%
Лейкоциты	WBC	15.58	6 - 17	x 10^{9}/л.
Бласты	BLAST	0	0 - 0	%
		0.00	0 - 0	x 10^{9}/л.
Миелоциты	MYELO	0	0 - 0	%
		0.00	0 - 0	x 10^{9}/л.
Метамиелоциты	META	0	0 - 0	%
		0.00	0 - 0	x 10^{9}/л.
Палочкоядерные нейтрофилы	BAND	0	0 - 3	%
		0.00	0 - 0.51	x 10^{9}/л.
Сегментоядерные нейтрофилы	SEGS	72	60 - 77	%
		13.09	3.6 - 13.09	x 10^{9}/л.
Эозинофилы	EOS	2	2 - 10	%
		0.31	0.12 - 1.7	x 10^{9}/л.
Базофилы	BASO	0	0 - 1	%
		0.00	0 - 0.17	x 10^{9}/л.
Моноциты	MONO	5	3 - 10	%
		0.31	0.18 - 1.7	x 10^{9}/л.
Лимфоциты	LYMP	12	12 - 30	%
		1.87	0.72 - 5.1	x 10^{9}/л.
Плазмоциты	PLASM	0	0 - 1	%
Тромбоциты	PLT	442	200 - 500	x 10^{9}/л.
Средний объем тромбоцитов	MPV	11.7	0 - 99.9	Фл
Нормоциты	NRBC	0	0 - 1	на 100 лейкоцитов

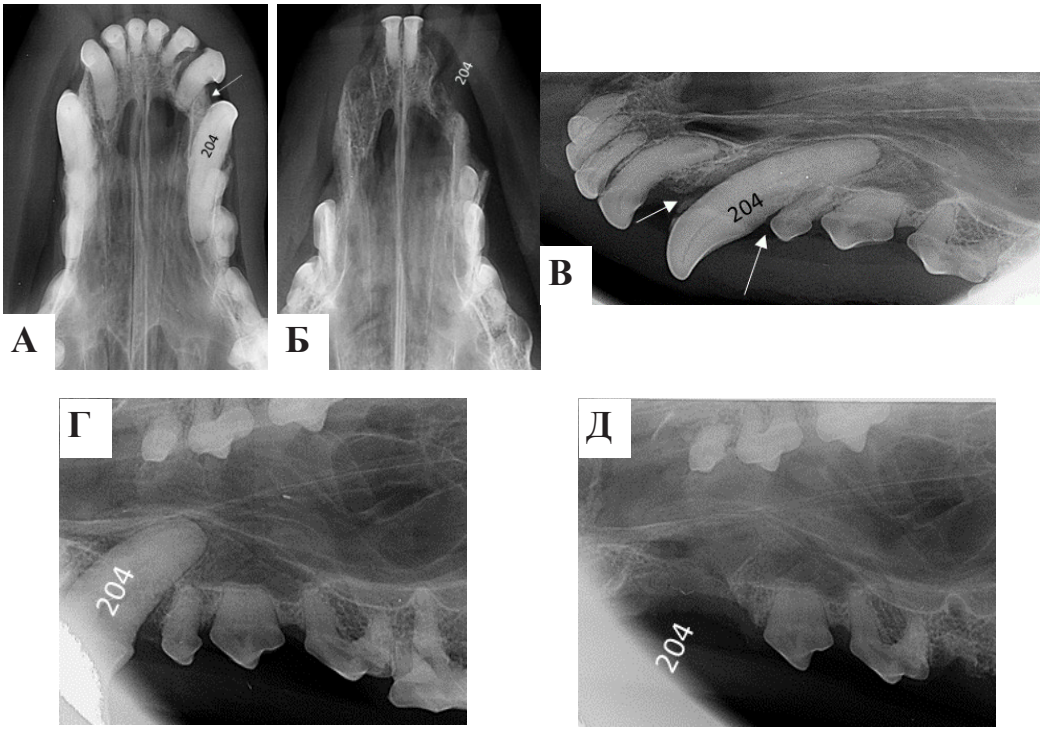


Рисунок 3 – Серия интраоральных рентгенограмм области ороназальной фистулы а) зуб 204 до экстракции, ростральная проекция; б) зуб 204 после экстракции, ростральная проекция; в) зуб 204 до экстракции латеральная проекция; г) зуб 204 до экстракции, латеральная проекция; д) зуб 204 после экстракции, латеральная проекция.

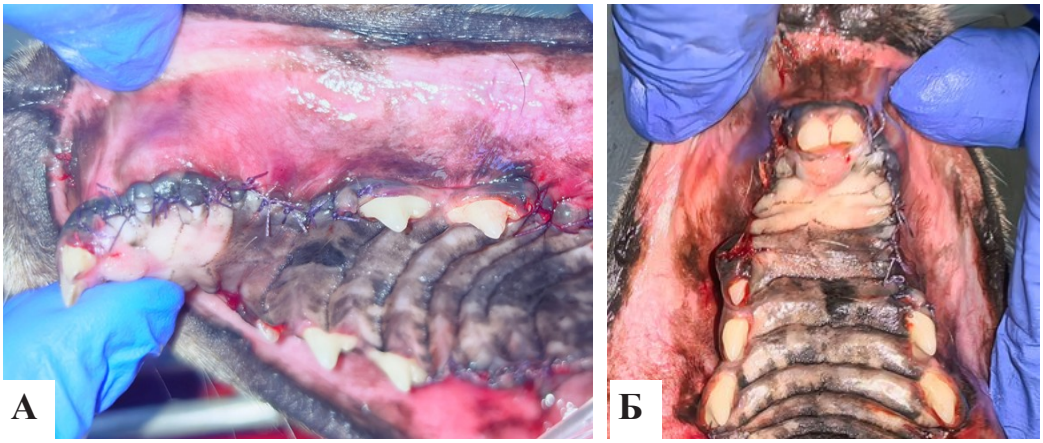


Рисунок 4 – Верхняя челюсть собаки. Вид ушитой ороназальной фистулы. а) вид с буккальной стороны; б) вид с палатальной стороны.

На 7-й день после оперативного вмешательства во время осмотра ротовой полости было обнаружено нарушение целостности швов в области операционной раны (устраненной фистулы). Из анамнеза стало известно, что владельцы, отступив от требований послеоперационного алгоритма ограничений допускали и не ограничивали получение собакой чрезмерной механической нагрузки на область операционного шва посредством твердых предметов, переносимых в пасти. Послеоперационные ограничения для собаки соблюдены не были, что привело к развитию осложнений в виде расхождения краев раны из-за повреждения тканей слизистой оболочки (рисунок 5).

На 7-й день после операции под общей анестезией была выполнена реоперация, включающая в себя ревизию раны (рисунок 6) с пластикой мягких тканей и повторным закрытием раны прерывистым узловатым швом без натяжения (рисунок 7).

Контроль состояния раны после реоперации проводился с периодичностью 7 дней. Владельцам животных донесена значимость соблюдения послеоперационных рекомендаций и риски, связанные с их несоблюдением. Владельцы строго выполняли все назначения, поэтому за время наблюдения в послеоперационный период не было выявлено признаков воспаления в области ушитой раны и нарушения целостности швов (рисунки 8, 9).

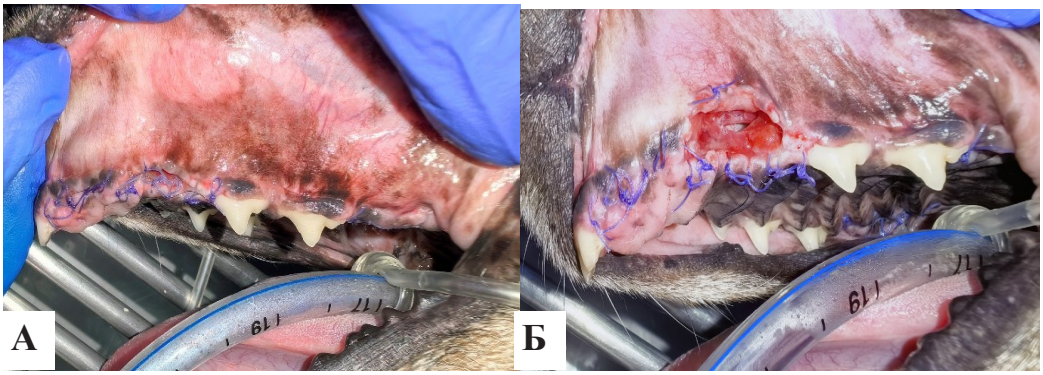


Рисунок 5 – Внешний вид дефекта нарушения целостности операционной раны а) до первичной обработки б) после первичной обработки.

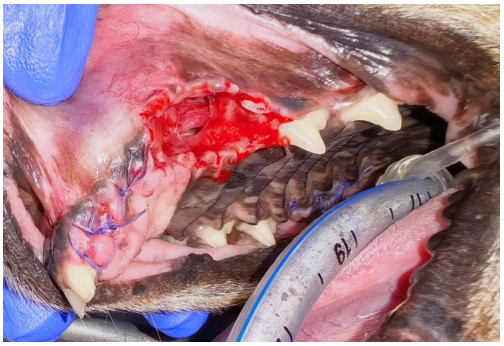


Рисунок 6 – Ревизия дефекта после нарушения целостности швов.

Рисунок 7 – Внешний вид ушитого дефекта после реоперации.

Рисунок 8 – Вид операционной раны после реоперации через 7 дней.

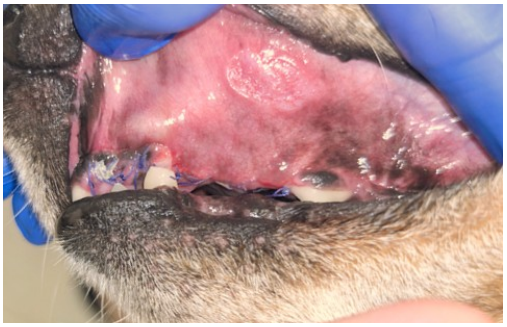


Рисунок 9 – Вид операционной раны после реоперации через 14 дней.

ОБСУЖДЕНИЕ / DISCUSSION

Ороназальная фистула (ОНФ) является самым частым тяжелым местным осложнением заболеваний пародонта у собак [8].

Данное заболевание может быть односторонним или двусторонним; острым (травматическим, ятрогенным) и хроническим (как осложнение пародонтита) [7,9].

К наиболее частым причинам возникновения ороназальных фистул у собак относят:

Осложнение течения пародонтита;

Интраоперационное (ятрогенное) осложнение, вызванное отслоением части альвеолярной стенки во время экстракции зуба (клыка);

Травмы (укушенные раны, тупая травма головы, электрические ожоги, огнестрельные ранения, проникновение инородного тела с некрозом тканей от давления, а также фрактуры твердого нёба и нарушение целостности слизистой оболочки нёба) [1].

Патогенез вторичной ОНФ связан с истончением альвеолярной кости, отделяющей корень зуба от носовой полости вследствие пародонтита. В результате этого образуется сообщение между ротовой и носовой полостями, при котором эпителий кармана на палатальной поверхности клыка становится непрерывным с эпителием слизистой оболочкой нёба верхнечелюстной кости, с одной стороны, и эпителием слизистой оболочкой носа с другой. В результате ротовая и носовая полости сообщаются между собой и развивается хроническое воспаление полости носа (ринит) [1,8].

К характерным симптомам данной патологии можно отнести чихание после кормления или поения, выделения из носа и трение морды. Хроническое воздействие бактерий полости рта на полость носа приводит к симптомам ринита (чихание, выделения из носа), разрушению носовых раковин и может привести к пневмонии. Поэтому лечение ороназальных фистул следует проводить как можно скорее после установки диагноза [1].

Образование ороназальной фистулы также может являться интраоперационным осложнением, вызванным отслоением части альвеолярной стенки во время удаления зуба. Поэтому после экстракции верхнечелюстного клыка очень важно определить, возникло ли сообщение с носовой полостью, о чем может свидетельствовать ипсилатеральное носовое кровотечение. Риск этого осложнения, если оно не наблюдается во время операции, можно существенно снизить путём сопоставления краев эпителия и точного закрытия дефекта лоскутом. Для зубов с ранее существовавшими ороназальными фистулами перед наложением лоскута необходимо тщательно вычистить эпителиальную выстилку нёбной части фистулы. Невыполнение этого шага может привести к рецидиву фистулы [1].

Для установления окончательного

диагноза ороназальной фистулы необходимо применение общей анестезии. Диагностику проводят с помощью пародонтального зонда, помещенного в десневой карман со стороны затронутой патологическим процессом поверхности зуба [8]. Диагноз подтверждается путём выявления глубоких карманов палатальной поверхности верхнечелюстных клыков и наличия носового кровотечения после зондирования кармана [7,9].

Также описан метод диагностики, при котором в нёбный карман вводят гибкий внутривенный катетер, соединённый со шприцем, заполненным физиологическим раствором. Пальцем осторожно закрывают отверстие кармана и медленно вводят физиологический раствор. Если имеется фистула, то физиологический раствор начинает каплями выделятся из ноздри на стороне поражения [7,9].

Лечение ороназальных фистул проводят путём экстракции соответствующего зуба и закрытия фистулы мукопериостальным лоскутом с использованием методики одиночного или двойного лоскута [7,9].

Для устранения дефекта можно использовать различные хирургические методы. Небольшие дефекты, при которых не происходит потери слизистой оболочки нёба, можно устранить с помощью простого прерывистого шва с использованием тонкого синтетического рассасывающегося монофиламентного шовного материала. Дефекты большого размера можно устранить с помощью широкого спектра методов, включая щёчные лоскуты, ротационные лоскуты, выдвижные лоскуты, язычные лоскуты, расщеплённые нёбные U-образные лоскуты и островные слизисто-надкостничные нёбные лоскуты. Выбор метода зависит от местоположения дефекта. В целом рекомендуется метод, который обеспечивает создание самого большого лоскута без натяжения [1].

Описанный клинический случай рассмотрен с точки зрения вариантов клинического проявления симптомов, диагностических, терапевтических и хирургических подходов при устранении ороназальной фистулы, развивающейся как следствие хронического пародонтита у собак. Показательным моментом является необходимость соблюдения владельцами животного послеоперационных ограничений с целью предупреждения развития нежелательных последствий. Состоятельность швов на слизистой оболочке ротовой полости и заживление операционной раны по «первичному натяжению» обеспечивается выполнением ограничений по использованию твердых предметов и механической нагрузке на период не менее 6 недель. Невыполнение послеоперационных требований и ограничений увеличивает процент осложнений, в частности нарушение состоятельности операционной раны и швов, приводящих к снижению, а в ряде случаев и неэффективности лечения [1].

Цель исследования – на примере клинического случая устранения ороназальной фистулы у собаки породы такса дать оценку фактору значимости алгоритма терапевтических рекомендаций как этиологическому аспекту профилактики послеоперационных осложнений данной патологии.

Низкая степень осознания владельцами животных значимости алгоритма терапевтических рекомендаций после оперативного вмешательства является актуальной проблемой современной ветеринарии, так как неверное выполнение врачебных рекомендаций может повлечь за собой серьезные клинические осложнения, вызвать сомнения в правильности поставленного диагноза и выборе методов лечения, увеличить время выздоровления, заставить прибегнуть к дополнительным методам исследования, привести к переходу заболевания в хроническую форму, ухудшить течение заболевания вплоть до летального исхода животного [10].

Наиболее распространенные причины, влияющие на результативность проведенных лечебных мероприятий:

1. Пренебрежение владельцем животного последствий несоблюдения врачеб-

ных рекомендаций.

2. Неверная интерпретация владельцем животного информации, полученной из сторонних источников.

3. Финансовые ограничения владельца животного.

4. Непонимание владельцами сути назначения конкретных препаратов или процедур [10].

При проведении работы с владельцем животного и достижения необходимого результата в лечении рекомендуются следующие приёмы:

1. Разъяснение требований выполнения послеоперационных рекомендаций.

2. Финансовая составляющая повторного лечения.

3. Информирование о последствиях послеоперационных осложнений.

4. Возможность коммуникации после хирургического лечения [10].

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Ороназальная фистула является значимой и распространённой дентальной патологией у собак. Данное заболевание требует комплексного подхода к диагностике и лечению. Важным условием успешного итога лечения является неукоснительное соблюдение владельцами животных рекомендаций по постоперационному лечению и уходу. Несоблюдение владельцами послеоперационных ограничений зачастую приводит к осложнениям в виде нарушения целостности швов и проведению повторной операции. Для повышения результативности проведенных хирургических вмешательств акцентировать внимание владельцев животных на значимости алгоритма терапевтических рекомендаций как этиологическому аспекту профилактики послеоперационных осложнений

CLINICAL MANIFESTATION AND TREATMENT OF ORONASAL FISTULA IN DOGS. DESCRIPTION (CLINICAL CASE)

Spirina A.S. *[1] – PhD in Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Veterinary Internship, (ORCID 0000-0002-1972-125X); **Bychkov V.S.** [1,2] – PhD in Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Veterinary Medicine (ORCID 0000-0003-1548-9999); **Korchneva T.V.** [1] – PhD in Agricultural Sciences, Intern of the Department of Veterinary Internship (ORCID 0009-0001-0806-4469); **Krasnikov A.V.** [3] – Grand PhD in Veterinary sciences, Professor of the Department of Animal Diseases and Veterinary and Sanitary Expertise (ORCID 0000-0002-4127-8725); **Krechunyak M.P.** – Intern of the Department of Veterinary Internship (ORCID 0009-0006-6132-3286)

[1] Don State Technical University

[2] Russian State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy

[3] Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov

* twins_anna@mail.ru

ABSTRACT

Acquired oronasal fistula (ONF) is an abnormal communication between the oral and nasal cavities caused by trauma or periodontal disease. According to literature, ONF is one of the most common pathologies of the oral cavity in dogs, the prevalence of which is 3.1%. This article presents a clinical case of eliminating an oronasal fistula in a dachshund dog, during the treatment of which a complication arose - a violation of the integrity of the sutures and the formation of a new fistula, which required reoperation. The purpose of the study is to show the complications of this pathology and methods of their treatment, which arose due to insufficient compliance, using the example of a clinical case of oronasal fistula in a dachshund dog. A 10-year-old male dachshund was admitted to the Dentalvet veterinary clinic (Moscow) for a dental examination. The owners complained of frequent sneezing, rhinitis, rubbing the muzzle with the paws, halitosis, decreased appetite and activity of the dog. Examination of the oral cavity revealed a significant amount of tartar, signs of periodontitis of several teeth and an oronasal fistula in the area of tooth 204. A comprehensive dental examination and treat-

ment were performed under general anesthesia, the results of which were entered into the dental chart. Changes in the color and texture of the gums, edema and hyperemia, increased bleeding on probing, the presence of recessions, and an oronasal fistula in the area of tooth 204 were revealed. A series of intraoral radiographs, oral cavity sanitation, extraction of diseased teeth, and oronasal cystotomy in the area of tooth 204 using a single-layer flap were performed. On the 7th day after the operation, during the examination of the oral cavity, a violation of the integrity of the sutures in the area of the extracted tooth 204 was found, as a result of the owner's failure to comply with postoperative recommendations. A wound revision with soft tissue plastic surgery and repeated oronasal cystotomy was performed. After 14 days, an examination revealed complete tissue regeneration without signs of inflammation. Oronasal fistula is a significant and common dental pathology in dogs. This disease requires a comprehensive approach to diagnosis and treatment. An important condition for a successful treatment outcome is strict adherence by animal owners to recommendations for postoperative treatment and care. Failure to comply with these recommendations by owners may lead to complications, in particular, disruption of the integrity of the sutures and reoperation. To prevent low compliance, it is necessary to first explain to owners the benefits of following medical recommendations and the consequences of violating their implementation.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Verstraete, F.J.M. Oral and maxillofacial surgery in dogs and cats / F.J.M. Verstraete, M.J. Lommer, A.J. Bezuidenhout – Elsevier, 2012. - 567 p.
2. Распространенность инфекционных гингивитов и пародонтитов у домашних животных / В. В. Кротенко, А. С. Спирина, А. М. Коваленко // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2015. – № 8. – С. 188-191. – EDN VYMHMX.
3. Holmstrom, S. E, Frost, P. & Eisner, E. R (1998a) Dental Prophylaxis. In: Veterinary Dental Techniques 2nd edn. Eds S. E. Holmstrolm, P. Frost, & E. R. Eisner. Saunders, Philadelphia. pp 133-166.
4. Marretta, S. M. (1998) Maxillofacial surgery. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 28(5), 1285-1296.
5. Smith, M. M. (2000) Oronasal fistula repair. Clinical Techniques in Small Anim Practice 15, 243-250.
6. Пародонтопатии у мелких домашних животных / С. Ю. Концевая, И. Н. Макаров, В. С. Бычков [и др.]. – Ростов-на-Дону: Донской государственный технический университет, 2023. – 68 с. – ISBN 978-5-7890-2084-5. – EDN CGPYLO.
7. Тутт С., Дипроуз Д., Кросли Д. Стоматология собак и кошек / Пер. с агл. – 3-е изд. – М.: «Аквариум Принт», 2015. – 223 с.
8. Niemiec, B. World Small Animal Veterinary Association Global Dental Guidelines / B. Niemiec, J. Gawor, A. Nemec, D. Clarke et al. // Journal of Small Animal Practice. – 2020. - Vol 61. - P. 113 — 119.
9. Tutt, Cedric. Small animal dentistry / Cedric Tutt - Blackwell Publishing Ltd., 2006.
10. Акчурин, С. О комплаентности в ветеринарии / С. Акчурин // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2022. – № 3. – С. 3-6. – EDN GPCNHU.

REFERENCES

1. Verstraete, F.J.M. Oral and maxillofacial surgery in dogs and cats / F.J.M. Verstraete, M.J. Lommer, A.J. Bezuidenhout – Elsevier, 2012. - 567 p.
2. Prevalence of infectious gingivitis and periodontitis in domestic animals / V. V. Krotenko, A. S. Spirina, A. M. Kovalenko // Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy. - 2015. - No. 8. - P. 188-191. - EDN VYMHMX.
3. Holmstrom, S. E, Frost, P. & Eisner, E. R (1998a) Dental Prophylaxis. In: Veterinary Dental Techniques 2nd edn. Eds S. E. Holmstrolm, P. Frost, & E. R. Eisner. Saunders, Philadelphia. pp 133-166.
4. Marretta, S. M. (1998) Maxillofacial surgery. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 28(5), 1285-1296.

5. Smith, M. M. (2000) Oronasal fistula repair. Clinical Techniques in Small Anim Practice 15, 243-250.
6. Periodontopathies in small domestic animals / S. Yu. Kontsevaya, I. N. Makarov, V. S. Bychkov [et al.]. - Rostov-on-Don: Don State Technical University, 2023. - 68 p. - ISBN 978-5-7890-2084-5. - EDN CGPYLO.
7. Tutt S., Deeprose D., Crosley D. Dentistry of dogs and cats / Transl. from English – 3rd ed. – M.: "Aquarium Print", 2015. – 223 p.
8. Niemiec, B. World Small Animal Veterinary Association Global Dental Guidelines / B. Niemiec, J. Gawor, A. Nemec, D. Clarke et al. // Journal of Small Animal Practice. – 2020. - Vol 61. - P. 113 — 119.
9. Tutt, Cedric. Small animal dentistry / Cedric Tutt - Blackwell Publishing Ltd., 2006.
10. Akchurin, S. On compliance in veterinary medicine / S. Akchurin // Veterinary science of agricultural animals. - 2022. - No. 3. - P. 3-6. - EDN GPCNHU.

УДК: 616.15-074:616.596-002.3:636.1
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.598

КЛИНИЧЕКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ ГНИЕНИИ СТРЕЛКИ У ЛОШАДЕЙ

Кириллов А.А. *– канд. ветеринар. наук; **Стекольников А.А.** – д-р ветеринар. наук, проф., академик РАН

ФГБОУ ВО «Санкт – Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

**Layka1981@mail.ru*

Ключевые слова: *лошади, заболевания копыт, гниение стрелки, общеклиническое исследование, биохимическое исследование.*

Keywords*: horses, hoof diseases, spread, frog thrush, general clinical examination, biochemical examination.*

Поступила: 12.08.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Заболевания дистального отдела конечностей у лошадей являются широко распространенными и могут быть вызваны различными факторами. Наиболее частыми причинами возникновения проблем с копытами являются механическое воздействие, которое приводит к образованию трещин, наминов, экхимозам основы кожи копыта. Инфекционный фактор, как причина, ведет к развитию гниения стрелки копыта и как результат вызывает хромоту у животного. Гниение стрелки, у лошадей, одна из наиболее распространенных проблем, для решения которой предложено большое количество средств. В связи с чем наше внимание было с акцентированно на такой патологии как гниение стрелки и создании способов и методов диагностики. Цель исследования заключалась в изучении изменений клинических и биохимических показателей крови лошадей с диагнозом гниение стрелки копыта. Для проведения исследования в 2025 г. в условиях конноспортивных комплексов Санкт-Петербурга и Ленинградской области было отобрано две группы лошадей теплокровных пород. В первую группу (контрольная) входили 8 здоровых лошадей, во вторую (подопытная) входили 8 лошадей с диагнозом гниение стрелки копыта. Животные находились в одинаковых условиях содержания. Проведено клиническое и биохимическое исследование сыворотки крови, изучая стандартные профили. Исследование показало, что у здоровых животных, так и у животных с гниением стрелки копыта достоверных различий между клиническими и биохимическими показателями крови не обнаружено. Полученные данные свидетельствуют, о том, что у лошадей теплокровных пород, с диагнозом гниение стрелки, клинические и биохимические показатели крови находятся в пределах нормативных значений. Гниение стрелки копыта у лошадей является локальным процессом.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Своеобразное строение копыта позволяет лошадям адаптироваться к различным рельефам, выдерживать различные нагрузки. Копыто состоит из каймы, венчика, стенки, подошвы, пятки, мякиша и наконец стрелки.

Стрелка копыта одна из важнейших структур копыта лошади. Она должна быть широкой и крепкой. Стрелка играет роль в защите чувствительных структур под ней, обеспечивая сцепление, участвует в кровообращении и погашает удары. Поврежденная стрелка уязвима для инфекции и, если ей не уделять должного внимая, это приводит к такой патологии как гниение стрелки [1, 2, 7].

Гниение стрелки распространенная патология среди заболеваний дистального отдела конечностей, которая в запущенных случаях может привести к хромоте животного и снижению его работоспособности. Данная патология многолика, ее развитие начинается с участков более мягкой ткани стрелки, затем эти участки становятся рыхлыми с образованием карманов и полостей, в результате разрушения ткани уменьшается размер стрелки. В месте с этим в образовавшихся карманах, полостях образуется и скапливается экссудат. В клиническом плане болезнь вначале протекает без симптомов, но затем, появляются признаки разрушения стрелки – это появление специфического запаха, далее, при усилении патологии, появляется экссудат от светлого до темно-серого цвета. Позже появляются признаки «бережливости» копыта, т.е., при движении животного уменьшается длина шага, лошадь освобождает пяточную часть копыта от нагрузки держа конечность в полусогнутом состоянии делая опору лишь на зацеп. При движении по различным грунтам (песчаный, каменистый) животное может обрывать шаг (спотыкаться), в результате воздействия механической силы на поврежденную стрелку [1, 2, 8].

При изучении литературных источников было отмечено наличие данных по изучению клинических и биохимических показателей крови и их изменениях при различных фазах ламинита [3, 4, 5, 6]. Но при этом так же отмечено отсутствие результатов по исследованию крови у лошадей с гниением стрелки копыта.

В связи с чем перед нами была поставлена цель: выяснить происходят ли изменения клинических и биохимических показателей крови у лошадей при гниении стрелки копыта, при использовании стандартных панелей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводили в 2025 году на базе конно-спортивных клубов Санкт-Петербурга, Ленинградской области и СПбГУВМ.

Для исследования были подобраны лошади теплокровных пород. В первую группу (контрольную) входило 8 здоровых животных, во вторую группу (подопытная) входило 8 животных диагнозом гниение стрелки копыта. Предварительно перед обследованием изучали условия содержания, степень нагрузки при тренировочном процессе. Определяли сроки планового обслуживания копыт животных. Ректальная температура составляла от 37 до 38 °С у лошадей обеих групп. Перед началом исследования лошади не подвергались тренировочному процессу.

Все животные содержались в одинаковых условиях. Денники размером 3*3м, пол бетонный. Постилка в денниках из опилок. Уборка регулярная. Вентиляция естественная.

Кровь для лабораторного исследования забирали (натощак) из яремной вены в вакуумную пробирку Improvacuter (ЭДТА К2) (Guangzhou Improve Medical Instruments Co., Китай) для общего анализа крови и вакуумную пробирку Improvacute (без актив.) для биохимического анализа. Транспортировка пробирок с биологическим материалом до лаборатории производилась в термоконтейнере с охлаждающими элементами и температурой 2–4 °С. Исследование общего анализа крови производили на гематологическом анализаторе Micros 60.

Подсчет лейкоцитарной формулы проводился методом микроскопии мазка крови, окрашенных по методу Паппенгейма. Скорость оседания эритроцитов определялась по методу Панченкова. Биохимические параметры определяли на биохимическом анализаторе Clima с применением наборов реактивов Фирмы Vital.

Статистический анализ проводили при помощи пакета статистических программ SPSS 26.0

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Нами была рассмотрена самая распространенная, локальная стадия гниения стрелки. На основании проведенного исследования, анализирующего клинические и биохимические показатели крови здоровых животных и животных с диагнозом гниение стрелки копыта, были получены следующие результаты.

Уровни лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина, тромбоцитов, СОЭ находятся в пределах нормальных значений и не имеют достоверных различий между группами здоровых животных и животных с гниением стрелки копыта Табл. 1.

Результат исследования лейкограммы показал, что у клинически здоровых животных данные показатели находились в пределах нормальных значений, в то время как в группе животных с гниением стрелки копыта было отмечено клинически не значимое повышение к верхней границе нормальных значений сегментоядерных нейтрофилов у 2 животных. Аналогичную картину наблюдали у 3 животных относительно моноцитов.

При биохимическом исследовании сыворотки крови табл. 2 не было установлено достоверно значимой разницы показателей между группами здоровых животных и животных, имеющих гниение стрелки копыта.

Таблица 1 – Общеклинические показатели крови здоровых животных и с гниением стрелки копыта

Показатель			Нормативные значения	Клинически здоровые животные (контроль)	Животные с гниением стрелки копыта
Лейкоциты, 10^9/л			**5,0-10,0**	7,65±1,12	7,06±0,90
Эритроциты, 10^{12}/л			**5,5-9,0**	8,15±0,52	7,55±0,93
Гемоглобин, г/л			**80-140**	117,12±13,55*	103,00±5,94
Тромбоциты, 10^9/л			**100-600**	177,62±19,03	189,50±26,62
Лейкограмма, %	**Базофилы**		**0-1**	0	0
	Эозинофилы		**1-4**	2,62±1,18	3,12±1,2
	нейтрофилы	**Миелоциты**	**0**	0	0
		Юные	**0**	0	0
		Палочкояд.	**1-6**	3,87±1,35	3,50±2,71
		Сегментояд.	**45-70**	58,87±3,90	59,75±7,32
	Лимфоциты		**20-45**	30,75±3,57*	30,00±5,12
	Моноциты		**1-5**	3,62±1,06	4,25±1,38
СОЭ, мм/ч			**40-70**	55,37±8,27	52,25±12,24

*Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем.*

Результаты данного исследования демонстрируют отсутствие изменений картины биохимических показателей как в контрольной, так и в опытной группах, данные показатели находились в пределах нормальных значений. Так же важно отметить, что нами была выбрана стандартная панель биохимических исследований.

На основании проведенных исследований, мы можем сделать вывод, что данная патология имеет стадийность, есть строгие этапы развития изменений. Это важно т.к., по сути, гниение стрелки, переходная стадия поражения дистального отдела конечности от локальных изменений (намин, травма, «засечка» и др) до уже системного поражения (абсцессы, флегмона, артрит, тендовагиниты, гнойный ламинит в т.ч. гниение мякиша и др.). То есть гниение стрелки перманентные вариант патологии, обусловленный лишь моментом обследования. Таким образом есть необходимость провести исследования в создании единого подхода в лечении патологий конечностей, а также самих методов диагностики, с учетом биохимического анализа расширенных показателей иммунитета.

Таблица 2 – Биохимические показатели крови здоровых животных и с гниением стрелки копыта

Показатель	Нормативные значения	Клинически здоровые животные (контроль)	Животные с гниением стрелки копыта
Общий белок, г/л	**62-78**	69,52±5,75	69,05±6,65
Альбумин, г/л	**25-45**	32,21±3,19	32,36±1,75
Глобулины, г/л	**33-42**	37,32±3,83	36,73±5,15
Мочевина, ммоль/л	**3,3-6,7**	4,79±0,73*	5,36±0,93
Азот мочевины, ммоль/л	**1,5-3,1**	2,2±0,34	2,44±0,42
Креатинин, мкмоль/л	**62-167**	114,72±14,83*	115,28±19,47
Билирубин, мкмоль/л	**5,6-39**	19,81±5,26	22,93±9,22
АЛТ, МЕ/л	**3,0-15,0**	12,76±1,70	8,4±2,99
АСТ, МЕ/л	**50-420**	369,13±40,40	286,91±69,75
Щелочная фосфотаза, МЕ/л	**80-200**	164,68±20,22	171,48±15,86
Амилаза, МЕ/л	**10-100**	27,52±9,68	31,43±15,64
Глюкоза, ммоль/л	**4,2-6,4**	5,65±0,68	5,5±0,73
Холестерин, ммоль/л	**2,3-4,4**	3,45±0,50	3,05±0,26
Кальций, ммоль/л	**2,5-3,4**	3,18±0,25	3,04±0,13
Фосфор, ммоль,л	**0,7-1,4**	0,96±0,19	0,95±0,16

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

1.Исследованиями установлено, что у лошадей теплокровных пород с диагнозом гниение стрелки копыта, локальной стадии, стандартные клинические и биохимические показатели крови находятся в пределах нормативных значений.

2.Гниение стрелки копыта у лошадей является локальным патологическим процессом, который затрагивает ограниченную область, и не является генерализованным процессом, не распространяется на обширные участки организма, что подтверждается отсутствием каких-либо изменений при клиническом и биохимическом исследованиях крови.

GENERAL CLINICAL AND BIOCHEMICAL BLOOD TESTING FOR FROG THRUSH IN HORSES

Kirillov A. A.* – Candidate of Veterinary Sciences; **Stekolnikov A. A.** – Doctor of Veterinary Sciences.

St. Petersburg State University of Veteri-

nary Medicine, St. Petersburg, Russia

* Layka1981@mail.ru

ABSTRACT

Diseases of the distal limbs in horses are widespread and can be caused by a variety of factors. The most common causes of hoof problems are mechanical stress, which leads to the formation of cracks, bruises, and ecchymosis of the underlying skin. Infection, as a cause, leads to the development of frog rot, resulting in lameness. Frog rot in horses is one of the most common problems, for which a variety of treatments have been proposed. Therefore, our focus was on frog rot and the development of diagnostic methods and techniques. The aim of the study was to investigate changes in clinical and biochemical blood parameters in horses diagnosed with frog rot. Two groups of Warmblood horses were selected for the study in 2025 at equestrian centers in St. Petersburg and the Leningrad Region. The first group (control) included 8 healthy horses, and the second (test group) included 8 horses diagnosed with frog rot. The animals were kept under identical conditions. Clinical and biochemical blood serum analysis was performed, using standard profiles. The study showed that no significant differences in clinical and biochemical blood parameters were found in either healthy animals or those with frog rot. These data indicate that in warmblood horses diagnosed with frog rot, clinical and biochemical blood parameters are within normal limits. Frog rot in horses is a localized process.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Кириллов А.А. Клиническое проявление гниения стрелки у лошадей / Кириллов А.А., Стекольников А.А. // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2024. - Том. 259(III). - С. 89-93. doi 10.31588/2413_4201_1883_3_259_89

2. Кириллов А.А. Распространение гниения стрелки копыта у лошадей / Кириллов А.А., Стекольников А.А. // Труды Кубанского государственного аграрного университета. - 2024. - (III). №2. - С. 205-210. doi 10.21515/1999-1703-111-205-210

3. Нефедов А.М., Луцай В.И., Концевая С.Ю., Руденко А.А. Изменение клеточного состава крови у лошадей при острой форме ламинита. Аграрная наука. 2023; (12):53-57. https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-377-12-53-57

4. Bailey SR, Marr CM, Elliott J. (2004). Current research and theories on the pathogenesis of acute laminitis in the horse. Vet J, 167(2), 129-142. https://doi.org/10.1016/S1090-0233(03)00120-5

5. C Riber , M D Rubio, F Marquez, M Pinedo, A Muñoz, F Castejon Hematological changes observed in Andalusian horses with laminitis. J Vet Med Sci. 1995 Oct;57 (5):981-4.doi: 10.1292/jvms.57.981.

6. K.C. Ogbanya, C.A. Eze, J.I. Ihedioha Haematological and Serum Biochemical Changes in Chronic Laminitis Affected Horses. Indian Journal of Animal Research. 2020 doi10.18805/ijar.B-1260

7. O'Grady S. E. Equine Thrush: A Closer Look // American Farriers Journal. - 2018. - Vol. 44. №8. - P. 1-4

8. Sang-Kyung Shin. Prevalence of Hoof Disorders in Horses in South Korea / Sang-Kyung Shin, Su-Min Kim, Lioyd S. // The Open Agriculture Journal. - 2020. - Vol. 14. - P. 25-29. doi: 10.2174/1874331502014010025

REFERENCES

1. Kirillov A.A. Clinical manifestation of arrow rot in horses / Kirillov A.A., Stekolnikov A.A. // Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. - 2024. - Vol. 259(III). - P. 89-93. (In Russ.) doi 10.31588/2413_4201_1883_3_259_89

2. Kirillov A.A. Distribution of hoof arrow rot in horses / Kirillov A.A., Stekolnikov A.A. // Proceedings of the Kuban State Agrarian University. - 2024. - (III) №2. - P. 205-210(In Russ.) . doi 10.21515/1999-1703-111-205-210

3. Nefedov A.M., Lutsai V.I., Kontsevaya S.Yu., Rudenko A.A. Changes in the cellular composition of blood in horses in acute laminitis. Agrarian science. 2023;(12):53-57. (In Russ.) https://doi.org/10.32634/0869-

8155-2023-377-12-53-57
4. Bailey SR, Marr CM, Elliott J. Current research and theories on the pathogenesis of acute laminitis in the horse. // Vet J. 2004.-167(2), 129-142. https://doi.org/10.1016/S1090-0233(03)00120-5
5. C Riber , M D Rubio, F Marquez, M Pinedo, A Muñoz, F Castejon Hematological changes observed in Andalusian horses with laminitis. // J Vet Med Sci. 1995 Oct;57 (5):981-4. doi: 10.1292/jvms.57.981.
6. K.C. Ogbanya, C.A. Eze, J.I. Ihedioha Haematological and Serum Biochemical Changes in Chronic Laminitis Affected Horses. // Indian Journal of Animal Research. 2020 doi10.18805/ijar.B-1260
7. O'Grady S. E. Equine Thrush: A Closer Look // American Farriers Journal. - 2018. - Vol. 44. №8. - P. 1-4
8. Sang-Kyung Shin. Prevalence of Hoof Disorders in Horses in South Korea / Sang-Kyung Shin, Su-Min Kim, Lioyd S. // The Open Agriculture Journal. - 2020. - Vol. 14. - P. 25-29. doi: 10.2174/1874331502014010025

НЕЗАРАЗНЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК: 56.02
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.604

КОРРЕКЦИЯ ГИПЕРФОСФАТЕМИИ У КОШЕК ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК ТРЕТЬЕЙ СТАДИИ

Зирук И.В.*[1] – д-р ветеринар. наук, доц., проф. каф. морфологии, патологии животных и биологии (ORCID 0000-0001-7300-3956); **Волкова Д.В.[1]** – асп. каф. морфологии, патологии животных и биологии (ORCID 0009-0002-2213-9751); **Пашкевич В.В.[1]** – асп. каф. морфологии, патологии животных и биологии (ORCID 0009-0002-0027-4493); **Копчекчи М.Е.[1]** – канд. ветеринар. наук, доц. каф. морфологии, патологии животных и биологии (ORCID 0000-0002-2593-7022); **Петрова Ю.В.[2]** – канд. биол. наук, доц. каф. паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы (ORCID 0000-0002-8360-0719)

[1] ФГБОУ ВО Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии им. Н.И. Вавилова
[2] ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина
*iziruk@yandex.ru

Ключевые слова: *хроническая болезнь почек, кошки, фосфатбиндеры, выживаемость, креатинин, полиурия, полидипсия, кахексия.*
Key words: *chronic kidney disease, cats, phosphate binders, survival, creatinine, polyuria, polydipsia, cachexia.*
Финансирование: *Материалы подготовлены в рамках научно-исследовательской работы аспиранта.*

Поступила: 20.08.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Хроническая болезнь почек является одним из самых распространенных гериатрических заболеваний. По мировым данным каждая 3 кошка старше 10 лет имеет хроническую болезнь почек. Хроническая болезнь почек характеризуется нарушением экскреторной, биосинтетической и регуляторной функции. В нашей работе изучены кошки и коты массой тела от 2,3 до 6,0 кг, в возрасте от 8 до 14 лет (n=60). Всем пациентам была диагностирована третья стадия хронической болезни почек по IRIS. Гематологические исследования проводились на базе УНТЦ «Ветеринарный госпиталь» ФГБОУ ВО Вавиловский университет, забор крови осуществлялся в 1, 30, 60 день. Во время исследования все пациенты получали диетуBestDinerRenal и симптома-

тическую терапию. Всех кошек разделили на 3 группы (n=20). Кошкам первой группы давали препараты Севеламер (Ренагель) в дозе 100 мг/кг/сутки, продолжительность приема была 60 дней. Кошки второй группы в качестве фосфатбиндера получали Карбонат Лантана (Фосренол) 100 мг/кг/сутки, продолжительность курса была 60 дней. Кошки 3 группы являлись контрольной группой, и не получали фосфоросвязывающих препаратов, а только лечебную диету. В ходе прогрессирования заболевания, происходит потеря функциональной ткани и с последующим замещение на соединительную. На данный момент не существует механизма, помогающего восстановить объем функциональной ткани, и все усилия ветеринарных специалистов направлены на снижение скорости прогрессирования развития почечной недостаточности. Одним из факторов, провоцирующих прогрессирования почечной недостаточности, является гиперфосфатемия. За время нашего исследования за всеми группами, не было отмечено ухудшения общего состояния и гибели животных.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Нарушение фосфорно-кальциевого обмена при хронической болезни почек рассматривают как системное заболевание, которое будет провоцировать не только дисметаболизм кальция и фосфора, но и кальцификацию стенок сосудок, развитие хронического гастрита, анорексии, галитоза. Чаще всего развитие гиперфосфатемии мы наблюдаем на третьей и четвертой стадии почечной недостаточности, но в некоторых клинических случаях может развиваться ранних стадиях хронической болезни почек. Это важно иметь в виду врачам клиницистам, так как основная цель при лечении пациента с хронической болезнью почек, это улучшение качества жизни, и снижение скорости развития заболевания. Развитиегиперфосфатемии в первую очередь обусловлено нарушением почечной экскреции фосфатов. Если функция почек в норме, клинически значимая гиперфосфатемия развивается редко. На ранних стадиях ХБП повышенный уровень партиреоидного гормона может удерживать фосфор сыворотки крови в пределах референсного диапазона за счет снижения экспрессии натрий-фосфатной транспортной системы в проксимальных канальцах, что приводит к увеличению экскреции фосфатов с мочой. Это позволяет нормализовать содержание фосфора в сыворотке крови за счет гиперпаратиреоза. Однако, когда скорость клубочковой фильтрации (СКФ) снижается до 20% от нормы или менее, этот адаптивный механизм больше не может поддерживать фосфат сыворотки в пределах референсного диапазона, и развивается гиперфосфатемия [2, 3, 8].

В условия современной ветеринарной практики, в арсенале ветеринарных специалистов имеется опыт применения разных фосфоросвязывающих препаратов, и диет. Данное исследование направлено для опередения эффективности применения фосфатбиндеров содержащих Севеламер и Карбонат Лантана совместимо с применением промышленных лечебных диет [1, 4, 7].

Севеламер – это органический полимер, который не содержит алюминия или кальция и не всасывается из желудочно-кишечного тракта (полностью выводится с калом). Эти соединения представляют собой обменные смолы, которые связывают пищевой фосфор и выделяют хлорид противоионов (гидрохлорид севеламера) или карбонат (карбонат севеламера). Севеламера гидрохлорид гидрофилен, а севеламеркарбонат гигроскопичен, но оба они нерастворимы в воде. Мы не отметили существенного влияния гигроскопических эффектов этого препарата на гидратацию, но наш опыт ограничен. Севеламер может быть связан с побочными эффектами со стороны желудочно-кишечного тракта, включая запоры, а при чрезвычайно высоких дозах у собак (от шести до 100 раз выше рекомендуемой дозы для людей) он может быть связан с нарушением абсорбции фолиевой кислоты и витаминов K, D [5]. Дополнительным преимуществом севеламера является его способность связывать и секвестрировать желчные кислоты, что приводит к

благоприятному липидному профилю.

Карбонат лантана является еще одним недавно разработанным не содержащим алюминий и кальций кишечным фосфатсвязывающим веществом и показано для использования у пациентов с терминальной стадией почечной недостаточности для снижения уровня фосфора в сыворотке крови.

Свободные катионы лантана становятся доступными после воздействия карбоната лантана на кислую среду желудка, и образуются высоко нерастворимые комплексы фосфата лантана. Очень мало лантана всасывается по всему желудочно-кишечному тракту [7].

Только 0,00005% пероральной дозы карбоната лантана, вводимой здоровой популяции собак, было абсорбировано, по сравнению с 0,05–0,1% для алюминия [6].

Трансформация рациона и связывание фосфатов в кишечнике являются ключевыми для обеспечения оптимального контроля фосфора и паратиреоидного гормона. Снижение получения фосфора с едой, пропорциональное снижению СКФ, позволит сохранить фосфор в сыворотке крови в пределах референсного значения без увеличения паратиреоидного гормона [1].

Кишечные фосфатбиндеры следует добавлять, если уровень фосфора в сыворотке крови остается повышенным после первого месяца потребления почечной диеты или если кошка не принимает переход на почечную диету. Потенциально могут возникнуть побочные эффекты ограничения фосфатов. Хотя гипофосфатемия является одним из возможных последствий, она трудно развивается у кошек с изначально высокой концентрацией фосфора в сыворотке крови и сниженной СКФ.

Гиперкальциемия может наблюдаться, когда соли кальция используются для связывания фосфатов в кишечнике. Запор и желудочно-кишечные эффекты могут возникнуть после использования некоторых кишечных фосфатсвязывающих веществ.

Цель исследования – изучить действие фосфоросвязывующих препаратов двух разных видов, при хронической болезни почек у кошек 3 стадии по IRIS.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Под наблюдением (120 дней) находились кошки и коты массой тела от 2,3 до 6,0 кг, в возрасте от 8 до 14 лет, породные и метисы, (n=60). Всем пациентам была диагностирована третья стадия хронической болезни почек по IRIS. Гематологические исследования проводились на базе УНТЦ «Ветеринарный госпиталь» ФГБОУ ВО Вавиловский университет, забор крови осуществлялся в 1, 30, 60 день.

Во время исследования все пациенты получали диетуBestDinerRenal, а также получали симптоматическую терапию, включающую в себе раствор Стерофундин 30 мл/кг/сутки (корректирование дегидратации), Маропиталь 1 мг/кг (противорвотный препарт), Цианокобаламин 500мг/сутки (антиоксидант). Инфузионную терапию проводили в течение 7 дней. Всех кошек разделили на 3 группы (n-20).

Кошкам первой группы давали препараты Севеламер (Ренагель) в дозе 100 мг/кг/сутки, продолжительность приема была 60 дней. Кошки второй группы в качестве фосфатбиндера получали Карбонат Лантана (Фосренол) 100 мг/кг/сутки, продолжительность курса была 60 дней.

Кошки 3 группы являлись контрольной группой, и не получали фосфоросвязывающих препаратов, а только лечебную диету. Прием препаратов осуществлялся строго вместе с приемом пищи.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

У всех кошек при первичном приеме были отмечены следующие симптомы, %: анорексия-65, рвота (уремический гастрит) -21, галитоз- 44, себорея и тусклая шерсть - 31, бледные видимые слизистые оболочки - 15, полиурия/полидипсия -43, дегидратация у 65.

Таблица 1 – Биохимические показатели крови кошек

Показатели	Сутки	Группы животных		
		1-я группа	2-я группа	3-я группа
Креатинин, Мкмоль/л	1	354,1±4,2	360,6±4,2	357,5±4,1
	30	300,5±3,0	302,1±1,5	310,2±2,2
	60	255,4±3,6	264,3±2,1	290,4±2,5
Мочевина, Ммоль/л	1	30,0±0,6	29,4±0,5	29,4±0,2
	30	21,2±0,5	21,0±0,7	22,1±0,2
	60	14,1±0,8	15,4±0,2	18,3±0,5
Общий белок, г/л	1	73,2±0,3	75,2±0,1	73,0±0,1
	30	68,6±0,5	68,6±0,3	70,5±0,3
	60	65,5±0,2	66,1±0,4	68,5±0,5
Альбумин, г/л	1	32,1±1,2	32,2±1,3	33,3±0,8
	30	31,0±0,8	30,5±1,5	31,4±0,6
	60	30,5±0,6	29,0±0,5	30,6±0,6
Общий кальций, Моль/л	1	2,0±0,1	2,0±0,05	2,0±0,05
	30	2,4±0,05	2,2±0,05	2,5±0,1
	60	2,7±0,2	2,4±0,1	2,7±0,05
Фосфор, Моль/л	1	2,9±0,5	2,8±0,5	2,7±1,0
	30	2,2±0,7	2,2±0,5	2,5±0,5
	60	1,7±0,05	1,8±0,2	2,2±0,5
Натрий, Моль/л	1	138,2±3,2	138,6±4,2	139,0±3,6
	30	144,1±2,5	141,2±3,5	142,2±2,0
	60	156,0±2,7	150,7±2,5	149,5±2,5
Калий, Моль/л	1	3,0±0,5	3,0±0,7	3,0±0,8
	30	3,3±0,4	3,3±0,3	3,2±0,3
	60	3,6±0,2	3,6±0,2	3,5±0,5

В первые сутки у всех животных наблюдалась азотемия, повышение креатинина и мочевины от референсных значений был в 2 и более раз. Важность оценивания креатинина в динамике при лечении кошек с хронической болезнью, заключается в том, что синтез креатинина обратно пропорционален объему мышечной массы пациента, но важным условием, является наличие дегидратации при оценке полученных значений (табл. 1).

В одном ретроспективном исследовании на кошках единственной клинико-патологической переменной, которая была связана с выживаемостью у животных с естественной ХБП, был фосфор в сыворотке крови. На каждую 1 единицу увеличения фосфора наблюдалось увеличение риска смерти на 11,8%. Изменения электролитного состава крови, вероятнее всего связанно с дегидратацией и рвотой, которая наблюдалась у большинства отобранных кошек. В условии гиперфосфатемии совместно с гипокальциемии будет наблюдаться разрежение костей, это будет обусловлено высвобождение кальция из костей, а также может провоцировать нарушение свертываемости крови. Высокие значения мочевины обусловлены в первую очередь снижением способности почек выведения из организма продуктов распада и снижения массы тела.

На фоне проводимой внутривенной терапии общее состояние исследуемых кошек, нормализовался аппетит, стала

снижаться полидипсия. Гематологические исследования провели на 30 день. В виду полученных данных можно отметить, что снижение уровня креатинина и мочевины произошел во всех трех группах, в первой группе процент снижения стал 16.5%, а во второй группе процент снижения составил 17,5, снижение в третьей группе составило 14,0%. Из чего можно сделать предварительный вывод, что более активную скорость снижения мы отмечаем в группах, получавших одновременно и промышленную лечебную диету и фосфатбиндеры. Аналогичную динамику по снижения уровня фосфора в сыворотке крови, показала первая и вторая исследуемая группа. Уровень общего белка и альбумина достиг референсного интервала. Улучшились не только гематологические показатели, у группы заметно улучшилось состояние кожи и шерсти, прошла себорея. Набор массы тела был отмечен во всех исследуемых группах.

К моменту 60 дня исследования можно сказать, что полученная динамика через 30 дней от момента начала исследования, закрепилась, снижение уровня креатинина составило более 20% от момента начала приема диеты и фосфатбиндера в первой группе и второй группе. Снижение фосфора в данных группах достигло рекомендованных значений по IRIS. В целом можно сказать, что электролитный баланс восстановился. Отмечалось улучшение аппетита, выраженный контроль желудочно-кишечных симптомов, шерстный покров стал опрятный, отметилось снижение запаха их ротовой полости.

Динамика, полученная от контрольной группы, оказалась менее выраженной. Снижение креатинина за 60 дней составило 16% процентов, когда первая и вторая группа достигли этих результатов за 30 дней.

Пациентам с диагнозом хроническая болезнь почек, при проведении терапии, мы хотим видеть максимально стойкую и быстро достигнутую ремиссию. Данное исследование показало, что для более быстрого снижения уровня фосфора, рекомендовано назначение фосфоросвязывающих добавок содержавших Севеламер и Карбонат Лантана совместно с применением специализированными промышленными рационами при хронической болезни почек.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Хотелось бы также отметить, что за время наблюдения за всеми группами, не было отмечено ухудшения общего состояния и гибели животных. Данные исследования достаточно актуальны и оптимистичны, в виду того, что кошки, имеющие диагноз хроническая болезнь почек третьей степени показывают медиану выживаемости от 180 дней до 548 дней.

CORRECTIONOFHYPERPHOSPHATEMIAINCATSWITHCHRONICKIDNEYDISEASEOFTHETHIRDSTAGE

Ziruk I.V.*[1] – Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Department of Morphology, Animal Pathology and Biology (ORCID 0000-0001-7300-3956); **Volkova D.V.[1] –** PhD student in the Department of Morphology, Animal Pathology and Biology (ORCID 0009-0002-2213-9751); **Pashkevich V.V.[1] –** PhD student in the Department of Morphology, Animal Pathology and Biology (ORCID 0009-0002-0027-4493); **Kopchekchi M.E.[1] –** PhD, Associate Professor in the Department of Morphology, Animal Pathology and Biology (ORCID 0000-0002-2593-7022); **Petrova Ya.V.[2] –** Associate Professor - Department of Parasitology and Veterinary Sanitary Expertise (ORCID 0000-0002-8360-0719).

[1] Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov

[2] Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – K. I. Skryabin Moscow Veterinary Academy

*iziruk@yandex.ru

ABSTRACT

Chronic kidney disease is one of the most common geriatric diseases. According to world data, every 3 cats over the age of 10 have chronic kidney disease. Chronic kidney disease is characterized by impaired excreto-

ry, biosynthetic, and regulatory functions. During the progression of the disease, there is a loss of functional tissue and subsequent replacement with connective tissue. In our work, we studied cats and kittens weighing between 2.3 and 6.0 kg, aged between 8 and 14 years (n=60). All patients were diagnosed with the third stage of chronic kidney disease according to the IRIS classification. Hematological studies were conducted at the Veterinary Hospital of the Vavilov University, and blood samples were collected on days 1, 30, and 60. During the study, all patients received the BestDinerRenal diet and symptomatic treatment. All cats were divided into 3 groups (n=20). Cats of the first group were given the drugs Sevelamer (Renagel) at a dose of 100 mg/kg/day, the duration of the reception was 60 days. Cats of the second group received as a phosphate binder Lanthanum Carbonate (Fosrenol) 100 mg/kg/day, the duration of the course was 60 days. Cats of the 3rd group were the control group, and did not receive phosphorous-binding drugs, but only a therapeutic diet. As the disease progresses, there is a loss of functional tissue and subsequent replacement with connective tissue. At the moment, there is no mechanism to help restore the volume of functional tissue, and all efforts of veterinary specialists are aimed at reducing the rate of progression of the development of renal failure. One of the factors that provoke the progression of renal failure is hyperphosphatemia. During our study, for all groups, there was no deterioration in the general condition and death of animals.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Браун, С.А. Влияние связывающего кишечный фосфор на концентрацию фосфора и паратиреоидного гормона в сыворотке крови у кошек со сниженной функцией почек / Браун С.А., Рикертсен М., Шелдон С. // Стажер J ApplResVetMed 2008; 6: 155–60.
2. Дибартола, С. Нарушения фосфора: гипофосфатемия и гиперфосфатемия. In: Dibartola SP, ed. Флюидные, электролитные и кислотно-щелочные расстройства в практике мелких животных / Дибартола С.., Уиллард М.Д. //3-е изд. Миссури: Эльзевир. 2006: 195–209.
3. Персей, В. Лантан: безопасное фосфатное связующее вещество / Персей В.., Бехетс Г.Дж., Бервоетс А.Р., Де Бро М.Е., Д'Хазе К. // Циферблат Семина 2006; 19: 195–99.
4. Росс, С.Д. Клиническая оценка модификации рациона для лечения спонтанной хронической болезни почек у кошек / Росс С.Д., Осборн К.А., Кирк К.А., Лоури С.Р., Келер Л.А., Ползин Д.Дж. // J AmVetMedAssoc 2006; 229: 949–57.
5. Шропп, Д.М. Фосфорный и фосфатный обмен у ветеринарных пациентов / Шропп Д.М. // J VetEmergCritCare 2006; 17:127–34.
6. Murer, H. Transcellular transport of calcium and inorganic phosphate in the small intestinal epithelium. Am J PhysiolGastrointest / Murer H. Hildmann B. //Liver Physiol 1981; 240: G 409–16.
7. Schmidt, B. Новое связывающее фосфат на основе лантана снижает абсорбцию фосфора в кишечнике у кошек/ Schmidt B., Delport P., Spiecker-Hauser U. // VetPharmacolTher 2006; 29 (дополнение 1): 206–7.
8. Антибактериальная терапия при патологии почек мелких домашних животных / А. С. Чиркова, К. А. Сидорова, Л. Н. Скосырских, М. В. Щипакин // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2024. – № 1. – С. 54-58. – DOI 10.52419/issn2782-6252.2024.1.54.

REFERENS

1. Brown, S.A. Effect of intestinal phosphorus binding on serum phosphorus and parathyroid hormone concentrations in cats with reduced renal function / Brown S.A., Rickertsens M., Sheldon S. // Trainee J ApplResVetMed 2008; 6: 155–60.
2. Dibartholomew, S. Phosphorus disorders: hypophosphatemia and hyperphosphatemia. In: Dibartola SP, ed. Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders in Small Animal Practice / Dibartola S.., Willard M.D. // 3rd ed. Missouri: Elsevier. 2006: 195-209.
3. Persey, V. Lanthanum: a safe phosphate binder / Persey V., Behets G.J., Bervoets

A.R., De Bro M.E., D'haze K. // Dial Semina 2006; 19: 195-99.
4. Ross, S.D. Clinical evaluation of modification diet for the treatment of spontaneous chronic kidney disease in cats / Ross S.D., Osborn K.A., Kirk K.A., Lowry S.R., Koehler L.A., Polzin D.J. // J AmVetMedAssoc 2006; 229:949-57.
5. Shropp, D.M. Phosphorus and phosphate metabolism in veterinary patients / Shropp D.M. // J VetEmergCritCare 2006; 17:127-34.
6. Murer, H. Transcellular transport of calcium and inorganic phosphate in the small intestinal epithelium. Am J PhysiolGastrointest / Murer H. Hildmann B. //Liver Physiol 1981; 240: G 409–16.
7.Schmidt, B. Новое связывающее фосфат на основе лантана снижает абсорбцию фосфора в кишечнике у кошек/ Schmidt B., Delport P., Spiecker-Hauser U. // VetPharmacolTher 2006; 29 (дополнение 1): 206–7.
8. Antibacterial therapy in kidney pathology of small domestic animals / A. S. Chirkova, K. A. Sidorova, L. N. Skosyrskikh, M. V. Shchipakin // Regulatory and legal regulation in veterinary medicine. – 2024. – No. 1. – pp. 54-58. – DOI 10.52419/issn2782-6252.2024.1.54.

УДК: 611.343
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.611

КОРРЕЛЯЦИЯ ПЕРИСТАЛЬТИКИ ТОНКОЙ КИШКИ И УЛЬТРАЗВУКОВОГО ПРИЗНАКА «ГАЛО» ЖЕЛЧНОГО ПУЗЫРЯ У СОБАК

Зирук И.В.*[1] – д-р ветеринар. наук, доц., проф. каф. морфологии, патологии животных и биологии (ORCID 0000-0001-7300-3956); **Волкова Д.В.[1]** – асп. каф. морфологии, патологии животных и биологии (ORCID 0009-0002-2213-9751); **Пашкевич В.В.[1]** – асп. каф. морфологии, патологии животных и биологии (ORCID 0009 -0002-0027-4493); **Копчекчи М.Е.[1]** – канд. ветеринар. наук, доц. каф. морфологии, патологии животных и биологии (ORCID 0000-0002-2593-7022); **Петрова Ю.В.[2]** – канд. биол. наук, доц. каф. паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы (ORCID 0000 -0002-8360-0719)

[1]ФГБОУ ВО Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии им. Н.И. Вавилова
[2]ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина

*iziruk@yandex.ru

***Ключевые слова**: анафилаксия, собака, ультразвуковая диагностика, специфический признак, перистальтика, динамика.*

***Keywords**: anaphylaxis, dog, ultrasound diagnosis, specific sign, peristalsis, dynamics.*

***Финансирование:** Материалы подготовлены в рамках научно-исследовательской работы аспиранта.*

Поступила: 20.08.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Анафилаксия у собак представляет собой системную аллергическую реакцию, приводящую к серьезным физиологическим изменениям. Признак "гало" (halo sign) – это гипоэхогенное кольцо вокруг стенки желчного пузыря при ультразвуковом исследовании. Считается, что он может быть связан с отеком стенки желчного пузыря или перихолециститом, вызванным различными факторами. В контексте анафилаксии появление "гало" может указывать на генерализованный отек и сосудистую проницаемость. Необходима дифференциальная диагностика с другими причинами "гало", такими как холецистит и новообразования. Данное исследование направлено на изучение корреляции между изменениями перистальтики тонкой кишки и ультразвуковым признаком "гало" в желчном пузыре. На базе УНТЦ «Ветеринарный госпиталь» ФГБОУ ВО Вавиловский университет были изучены клинические случаи у собак с признаками анафилактической реакцией, где провоцирую-

щим фактором были укусы насекомого. Были проведены следующие исследования и терапия – первичный осмотр, ультразвук брюшной полости (первичное и в динамике), общий анализ крови, биохимический анализ крови, термометрия, инфузионная терапия, мазок на Babesia canis. В результате исследования установлено, что ультразвуковые изменения перистальтики тонкой кишки и стенки желчного пузыря коррелируют, на фоне изменения состояния пациента при анафилаксии и ее разрешения. Изучение патофизиологических механизмов, лежащих в основе взаимосвязи между этими признаками, позволят улучшить диагностику и разработать новые терапевтические подходы для лечения анафилактического шока у собак, а также предоставить ветеринарным врачам дополнительный инструмент для оценки тяжести анафилактической реакции.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Анафилаксия – системная реакция гиперчувствительности I типа, которая часто приводит к летальному исходу. Многие из основных клинических проявлений затрагивают органы, в которых концентрация тучных клеток наиболее высока: кожу, лёгкие и пищеварительный канал. Гистамин и другие вредные медиаторы воспаления способствуют повышению проницаемости сосудов и сокращению гладкой мускулатуры; они легко высвобождаются из сенсибилизированных тучных клеток и базофилов, подвергшихся воздействию антигена. Анафилаксия может быть вызвана различными антигенами, включая яды насекомых и рептилий, различные лекарственные препараты, вакцины и продукты питания [1, 4].

У собак наиболее частыми причинами являются укусы насекомых (в частности, перепончатокрылые), лекарства, вакцины и пищевые продукты. При попадании агента в организм могут развиться спазм мелких гладких мышц печёночных вен, расширение капилляров и артерий брюшной полости с депонированием в них крови, а также спазм гладких мышц мочевого пузыря и кишечника, что может быть причиной непроизвольных актов дефекации и мочеиспускания [2, 3, 5]. Органы-мишени анафилаксии у собак – печень и пищеварительный канал, поскольку именно там выделяется гистамин у этого вида животных. Клинические признаки могут включать рвоту, диарею, затрудненное дыхание, отек морды и коллапс.

Анафилаксия может вызывать нарушения моторики пищеварительного канала, приводя к изменениям перистальтики и стенок желчного пузыря. Если говорить про перистальтические волны, возможно, как усиление (гиперперистальтика), так и угнетение (гипоперистальтика) в зависимости от тяжести и фазы реакции. Изменения перистальтики могут быть косвенным признаком системной реакции и использоваться для оценки состояния. Ультразвуковое исследование позволяет визуализировать перистальтику и выявлять аномалии в реальном времени. Так же можно отследить изменения желчного пузыря и окружающей его паренхимы печени, которое представлено специфическим ультразвуковым признаком «гало»

Признак "гало" (halo sign) – это гипоэхогенное кольцо вокруг стенки желчного пузыря при ультразвуковом исследовании. Считается, что он может быть связан с отеком стенки желчного пузыря или перихолециститом, вызванным различными факторами. В контексте анафилаксии появление "гало" может указывать на генерализованный отек и сосудистую проницаемость [6, 7]. Необходима дифференциальная диагностика с другими причинами "гало", такими как холецистит и новообразования.

Для изучения данного вопроса выдвинутая гипотеза заключается в том, что анафилаксия вызывает комплекс изменений, влияющих как на пищеварительный канал, так и на желчный пузырь. Высвобождение медиаторов воспаления может приводить к изменениям перистальтики и отеку стенки желчного пузыря. Корреляция между этими двумя признаками может служить дополнительным диагностическим критерием анафилаксии. Будут оцениваться перистальтика тонкой кишки (нормальная, гипер-, гипо-) на основании ультразвукового исследования, выявле-

ние наличия или отсутствия признака "гало" вокруг желчного пузыря и статистический анализ для определения корреляции между изменениями перистальтики и наличием "гало". Дальнейшие исследования необходимы для подтверждения этой взаимосвязи и определения ее клинической значимости.

Цель исследования – выявление потенциальной корреляции между изменениями перистальтики тонкой кишки и ультразвуковым признаком "гало" в желчном пузыре при анафилаксии у собак. Результаты могут способствовать улучшению диагностики и лечения этой серьезной патологии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В период 2023 года по 2025 год на базе УНТЦ «Ветеринарный госпиталь» ФГБОУ ВО Вавиловский университет были зарегистрированы 3 случая у собак с признаками анафилактической реакции, где провоцирующим фактором был предположительно укус насекомого. У всех трех собак был относительно схожий анамнез жизни (условия проживания, рацион, вакцинальный статус, обработка от паразитов, возрастная категория от 3 до 7 лет, самцы, кастрированные) и симптомы (угнетенное состояние, гипертермия, учащенное дыхание, рвота, у одного кобеля была и рвота и диарея. Из анамнеза при поступлении на прием владельцы отмечали - резкое ухудшение физиологического состояния, угнетение, тяжелое дыхание, жалобы на отказ от корма и воды, слабость в тазовых и грудных конечностях. У одного из пациентов был умеренный отек в области лопатки – вероятнее место укуса насекомого. Рацион – промышленные корма, вакцинированы, от паразитов обработаны. Все собаки имели доступ к свободному выгулу. Были проведены следующие исследования и манипуляции – первичный осмотр, термометрия, аускультация, постановка в\в катетера, забор крови на общий анализ и биохимический анализ, ультразвуковое исследвоание брюшной полости (протокол A-FAST, первичное и в динамике), инфузионная терапия, мазок на Babesia canis. После пациентам была назначена медикаментозная терапия и повторное ультразвуковое исследование желчного пузыря и пищеварительного канала.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Получены следующие результаты по анализам крови, где отмечается повышение печеночных показателей и лейкоцитов по анализу крови. В частности, по ультразвуковой диагностике: на первичном исследовании в брюшной полости в области долей печени локализуется свободная жидкость в умеренном объеме и малом объем объеме в области селезенки, печень увеличена, паренхима пониженной эхогенности, сосудистый рисунок неизменен. Стенки желчного пузыря неравномерно и значительно утолщены, так же стенка была 2-х контурной, за счет гипоэхогенного ободка – признак «гало». (Рис. 1, 2). После проведения медикаментозной терапии по результатам ультразвукового исследования желчный пузырь пришел в стабильное физиологическое состояние и был без структурных изменений. (Рис 3.)

Помимо изменений желчного пузыря выявлены изменения перистальтики кишки - гипотония всей тонкой кишки, содержимое было представлено полужидкостными массами, однородными, гипоэхогенными, в умеренном объёме (химус). Петли тощей кишки имели вид «гофры», что характерно для спазмов (Рис. 4).

Затем во время и после медикаментозной терапии проводилось динамическое ультразвуковое исследование. Результаты представлены в таблице 1.

Анализы проведенной лабораторной диагностики представлены в таблицах 2, 3. Мазок на Babesia canis был отрицательным.

Отмечается лейкоцитоз и гемоконцентрация, характерные для острого процесса и умеренной дегидратации. Так, содержание лейкоцитов у больных животных составляло 36,71±0,75 109/ л, что превышало физиологическую норму здоровых животных в 3,5 раза.

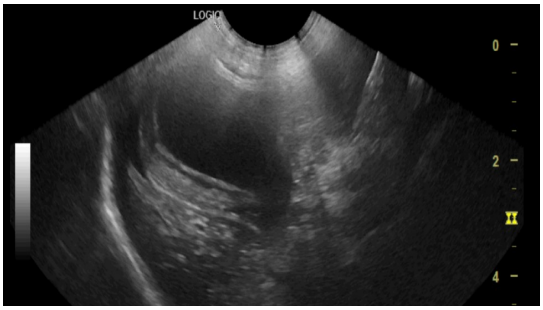


Рисунок 1 – На рисунке представлен желчный пузырь со специфическим знаком «гало» у пациента на первичном УЗИ. Черной стрелкой обозначен сам желчный пузырь, оранжевой измененная стенка пузыря, синей стрелкой обозначена свободная жидкость между долями печени и диафрагмой.

Рисунок 2 – На рисунке представлен желчный пузырь со специфическим знаком «гало» на УЗИ спустя 2 часа после приема. Черной стрелкой обозначен сам желчный пузырь, оранжевой измененная стенка пузыря, синей обозначена свободная жидкость между долями печени и диафрагмой.

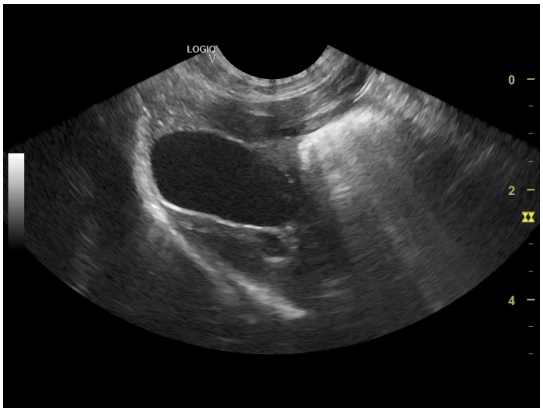


Рисунок 3 – На рисунке представлен желчный пузырь без структурных изменений на УЗИ спустя 12 часов после приема. Черной стрелкой обозначен сам желчный пузырь, оранжевой нормальная стенка пузыря. Свободная жидкость отсутствует.

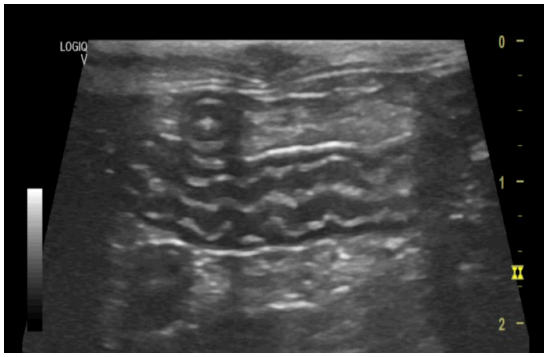


Рисунок 4 – На рисунке представлена петля тощей кишки в виде «гофры», что характерно для спазма. Красным обозначена сама кишка в сагиттальном срезе.

Таблица 1 – Ультразвуковое динамическое исследование изменений желчного пузыря и перистальтики тонкой кишки

Время проведения УЗИ	Желчный пузырь	Перистальтика и спазмы тонкой кишки	Свободная жидкость в брюшной полости
При поступлении	Стенка значительно утолщена, признак «гало» визуализируется, 0.34-0.4 см	Перистальтика снижена значительно (гипотония), петли тощей кишки с признаками «гофры» (спазм)	В области долей печени и селезенки
Спустя 2 часа после поступления	Стенка умеренно утолщена, признак «гало» визуализируется, 0.22-0.35 см	Перистальтика снижена, петли тощей кишки не изменены	В области долей печени
Спустя 12 часов после поступления	Стенка не утолщена, знак «гало» не визуализируется, 0.1-0.13 см	Перистальтика умеренная	Отсутствует

Таблица 2 – Общий анализ крови

Показатель	Единицы измерения	Полученный результат	Нормограмма (собака)
Гемоглобин (HGB)	г/л	208,01±1,46	120-160
Гематокрит (HCT)	%	52,50±0,64	30-65
Эритроциты (RBC)	10^{12}/ л	7,60±0,04	5,5-8,5
Лейкоциты (WBC)	10^{9}/ л	36,71±0,75	8,0-10,5
Тромбоциты (PLT)	10^{9}/л	137,31±0,97	250-550
Гранулоциты (Gran)	%	87,80±0,86	40-65
Лимфоциты (Lymph)	%	6,30±0,07	20-40
Моноциты (Mid)	%	5,90±0,08	1-5
Среднее содержания гемоглобина в эритроците (MCH)	pg	27,40±0,31	20-25
Цветной показатель (ЦП)		1,35±0,03	0,8-1,5
Ширина распределения эритроцитов (RDW)	%	14,90±0,11	8,7-12,0
Средний обьем эритроцита (MCV)	fl	69,12±0,59	62-72
Средняя концетрация гемоглобина в эритроците (MCHC)	г/л	397,21±3,76	300-380
Средний обьем тромбоцита (MPV)	fl	13,50±0,31	7,0-12,0
Ширина распределения тромбоцитов (PDW)		43,80±0,38	
Тромбокрит (PCT)	%	0,19±0,02	

Таблица 3 – Биохимический анализ крови

№	Показатель	Единицы измерения	Полученный результат	Нормограмма (собаки)
1	Билирубин общ	мкмоль/л	23,90±0,21	2,5-10,5
2	Билирубин прямой	мкмоль/л	6,77±0,12	0-5,0
3	АсТ	Ед./л	105,70±1,43	0-50,0
4	АлТ	Ед./л	126,90±2,08	0-50,0

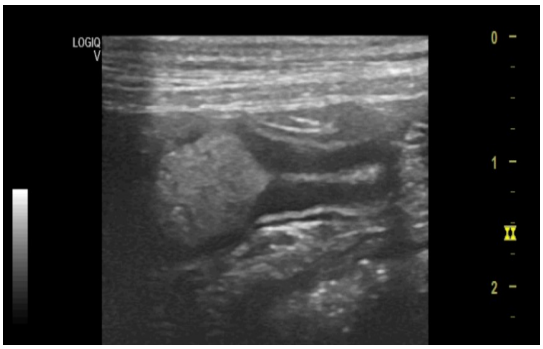


Рисунок 5 – На рисунке представлена петля тощей кишки без структурных изменений. В просвете гипоэхогенное однородное содержимое (химус). Черными стрелками отмечена стенка кишки.

По анализам крови (биохимический анализ) был выявлены завышения печеночных показателей, что характерно для печеночной дисфункции. Так, показатели АсТ и Ал Т составляли 105,70±1,43 и 126,90±2,08 ед/л, что выше физиологической нормы более, чем в два раза.

По полученным результатам можно утверждать, что после проведения терапии и динамического исследования органов на ультразвуковом исследовании, есть положительный ответ, как со стороны желчного пузыря, так и тонкой кишки (Рис. 5). Клинически отмечается нормализованное дыхание, аппетит, улучшение активности, отсутствие повышенной температуры и рвоты.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Базируясь на данных, полученных в ходе исследования, можно предположить, что ультразвуковые изменения перистальтики тонкой кишки и стенки желчного пузыря коррелируют, на фоне изменения состояния пациента при анафилаксии и ее разрешения.

Изучение патофизиологических механизмов, лежащих в основе взаимосвязи между этими признаками, позволят улучшить диагностику и разработать новые терапевтические подходы для лечения анафилактического шока у собак, а также предоставить ветеринарным врачам дополнительный инструмент для оценки тяжести анафилактической реакции.

CORRELATION OF PERISTALSIS OF THE SMALL INTESTINE AND THE ULTRASOUND SIGN OF THE GALLBLADDER "HALO" IN A DOG

Ziruk I.V.*[1] – Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Department of Morphology, Animal Pathology and Biology (ORCID 0000-0001-7300-3956); **Volkova D.V.[1]** – PhD student in the Department of Morphology, Animal Pathology and Biology (ORCID 0009-0002-2213-9751); **Pashkevich V.V.[1]** – PhD student in the Department of Morphology, Animal Pathology and Biology (ORCID 0009-0002-0027-4493); **Kopchekchi M.E.[1]** – PhD, Associate Professor in the Department of Morphology, Animal Pathology and Biology (ORCID 0000-0002-2593-7022); **Petrova Ya.V.[2]** – Associate Professor - Department of Parasitology and Veterinary Sanitary Expertise (ORCID 0000-0002-8360-0719).

[1]Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov

[2] Moscow State Academy of Veterinary

Medicine and Biotechnology – K. I. Skryabin Moscow Veterinary Academy

*iziruk@yandex.ru

ABSTRACT

Anaphylaxis in dogs is a systemic allergic reaction that leads to serious physiological changes. The "halo sign" is a hypoechoic ring around the gallbladder wall during ultrasound examination. It is believed that it may be associated with swelling of the gallbladder wall or pericholecystitis caused by various factors. In the context of anaphylaxis, the appearance of a "halo" may indicate generalized edema and vascular permeability. Differential diagnosis with other causes of "halo", such as cholecystitis and neoplasms, is necessary. This study is aimed at studying the correlation between changes in peristalsis of the small intestine and the ultrasound sign of a "halo" in the gallbladder. Clinical cases in dogs with signs of anaphylactic reaction, where insect bites were the provoking factor, were studied on the basis of the UNTC "Veterinary Hospital" of the Vavilov University. The following studies and therapies were performed: primary examination, ultrasound of the abdominal cavity (primary and dynamic), general blood test, biochemical blood test, thermometry, infusion therapy, smear on Babesia canis. As a result of the study, it was found that ultrasound changes in the peristalsis of the small intestine and the wall of the gallbladder correlate with changes in the patient's condition during anaphylaxis and its resolution. Studying the pathophysiological mechanisms underlying the relationship between these signs will improve the diagnosis and develop new therapeutic approaches for the treatment of anaphylactic shock in dogs, as well as provide veterinarians with an additional tool for assessing the severity of an anaphylactic reaction.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Даниэлла Л. Шмуэль Анафилаксия у собак и кошек /Даниэлла Л. Шмуэль, Йонайра Кортес// VetEmergCritCare (Сан-Антонио). 2013.-№7-8. 23(4): 377-94

2. Корнеева, Н.А. Гиперчувствительность немедленного типа: особенности патогенеза и проявление ее у животных/ Корнеева Н.А. // Научный журнал молодых ученых. №.3(28). - 2022 С. 31-35

3. Хаитов, Р.М. Аллергология и иммунология /Р.М. Хаитов, Н.И. Ильина// АСМОК. крат. изд. М.: ГЭОТАР -Медиа. 2017. 640 с.

4. Ковальчук, Л.В. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии / Ковальчук Л.В., Гановская Л.В., Мелихова Р.Я. //М.: ГЭОТАР-МЕДИА. -2018. С. 351

5. Aubrey, L. Lisciandro. Anaphylaxis-related hemoperitoneum in 11 dogs / Aubrey L. Hnatusko. John C. Gicking, Gregory R // Vet Emerg Crit Care, 31(1):80–85, Jan 2021.

6. Lisciandro, G.R. Abdominal FAST (AFAST)-detected Hemorrhagic Effusion in 11 Dogs with Acute Collapse and Gallbladder Wall Edema (Halo Sign) with Presumed Anaphylaxis / Lisciandro G.R. //Abstract J Vet Emerg Crit Care, 2016.

7. Kate Turner. Allergy, inflammation, hepatopathy and coagulation biomarkers in dogs with suspected anaphylaxis due to insect envenomation /Kate Turner, Corrin Boyd, Gabriele Rossi, Claire R Sharp, Melissa A Claus, Abbie Francis, Lisa Smart // Front Vet Sci: Volume 9. 2022.

8. Samantha Minh Thy Nguyen. Mechanisms Governing Anaphylaxis: Inflammatory Cells, Mediators, Endothelial Gap Junctions and Beyond /Samantha Minh Thy Nguyen, Chase Preston Rupprecht, Aaisha Haque, Debendra Pattanaik, Joseph Yusin, Guha Krishnaswamy // Int. J. Mol. Sci. 2021, 22(15).

REFERENS

1. Daniela L. Shmuel Anaphylaxis in Dogs and Cats /Daniela L. Shmuel, Yonaira Cortez// VetEmergCritCare (San Antonio). 2013.-No. 7-8. 23(4): 377-94

2. Korneeva, N.A. Immediate-type hypersensitivity: features of pathogenesis and manifestation in animals/ Korneeva N.A. // Scientific Journal of Young Scientists. No. 3(28).-2022 P. 31-35

3. Khaitov, R.M. Allergology and immunology /R.M. Khaitov, N.I. Ilyina// Asmok. brief. ed. M.: GEOTAR -Media. 2017. 640 p.
4. Kovalchuk, L.V. Clinical immunology and allergology with the basics of general immunology / Kovalchuk L.V., Ganovskaya L.V., Melikhova R.Ya. //M.: GEOTAR-MEDIA. -2018. P. 351.
5. Aubrey, L. Lisciandro. Anaphylaxis-related hemoperitoneum in 11 dogs / Aubrey L. Hnatusko. John C. Gicking, Gregory R // Vet Emerg Crit Care, 31(1):80–85, Jan 2021.
6. Lisciandro, G.R. Abdominal FAST (AFAST)-detected Hemorrhagic Effusion in 11 Dogs with Acute Collapse and Gallbladder Wall Edema (Halo Sign) with Presumed Anaphylaxis / Lisciandro G.R. //Abstract J Vet Emerg Crit Care, 2016.
7. Kate Turner. Allergy, inflammation, hepatopathy and coagulation biomarkers in dogs with suspected anaphylaxis due to insect envenomation /Kate Turner, Corrin Boyd, Gabriele Rossi, Claire R Sharp, Melissa A Claus, Abbie Francis, Lisa Smart // Front Vet Sci: Volume 9. 2022.
8. Samantha Minh Thy Nguyen. Mechanisms Governing Anaphylaxis: Inflammatory Cells, Mediators, Endothelial Gap Junctions and Beyond /Samantha Minh Thy Nguyen, Chase Preston Rupprecht, Aaisha Haque, Debendra Pattanaik, Joseph Yusin, Guha Krishnaswamy // Int. J. Mol. Sci. 2021, 22(15).

УДК: 619:616-001.4
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.619

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ В ВЕТЕРИНАРИИ

Головин С.Н. [1]* – науч. сотр. (ORCID 0000-0002-1929-6345); **Кириченко Е.Ю.** [2] – д-р биол. наук. зав. каф. «Биоинженерия» (ORCID 0000-0003-4703-1616); **Седова Д.А.** [1] – науч. сотр. (ORCID: 0000-0003-1194-7251); **Ермаков А.М.**[2] – д-р биол. наук, проф., директор Института живых систем (ORCID 0000-0002-9834-3989)

[1] НИЛ «МедЦифра»
[2] ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет»

*labbibez@yandex.ru

Ключевые слова: *мезенхимные мультипотентные стволовые клетки, ММСК, клеточная терапия, спинальная травма, травмы кожи*

Key words: *mesenchymal multipotent stem cells, MMSC, cell therapy, spinal injury, skin injuries*

Финансирование: *Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Министерства науки и высшего образования РФ № FZNE-2024-0004.*

Поступила: 15.06.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Концепция клеточной терапии основана на введении в организм эукариориотических клеток с целью лечения патологических состояний. Изначально возникшая в области медицины человека, клеточная терапия в ветеринарии находит все большее применение и активно развивается. В данном исследовании проанализированы и обобщены данные о применении клеточной терапии в ветеринарии, проведен обзор клинических исследований и нормативных документов. Целью нашего исследования было оценить перспективы применения терапии стволовыми клетками в ветеринарии, и основные направления клинических исследований, оценить их эффективность и определить основные критические моменты в практической реализации. Нами было установлено, что наибольшее количество исследований посвящено эффективности мезенхимных стволовых клеток в лечении остеоартроза у лошадей, спинальных травм у собак и кошек, острых и хронических повреждений кожи у собак. Основными направлениями применения клеточной терапии в ветеринарии является лечение хронических заболеваний суставов, острых и хронических повреждений спинного мозга и кожи. В обзоре представлены наиболее значимые достижения в области клеточной терапии мезенхимными стволовыми клетками в ветеринарии, а также обсуждаются проблемы контроля качества и правового регулирования в этой области. Несмотря на значительный прогресс в последнее время, ветеринарная регенеративная медицина находится только на начальном этапе развития, хотя есть все предпосылки для скорого внедрения ее в рутинную клиническую практику. Клеточная терапия позволит эффективно восполнять дефекты различных тканей, избежать высокоинвазивных вмешательств и значительно

сократить сроки выздоровления. Создание аналогичных доступных препаратов является перспективной задачей для ветеринарии в России, а реализация подхода «Единое здоровье» будет способствовать эффективному развитию отрасли.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Концепция «Единое здоровье», принципы которой были провозглашены в 2004 году [1], значительно ускорила трансляцию достижений медицины человека в ветеринарию [2]. Данный подход, учитывающий общие механизмы патофизиологии человека и животных и схожее влияние общих факторов среды обитания, позволяет не только быстрее внедрять перспективные технологии гуманной медицины в ветеринарию, но и дает дополнительные данные в оценке эффективности методов, что особенно ценно при анализе воспроизводимости результатов доклинических испытаний.

Целый ряд заболеваний человека и животных имеет схожие этиологию, патогенез и терапевтические стратегии. К таковым можно отнести остеоартроз, миокардит, пародонтит, воспалительные заболевания кишечника, цирроз печени, нейротравмы, ожоги, дефекты и травмы костей и сухожилий [2]. Особенностью этих заболеваний является применение в терапии на современном этапе методов регенеративной медицины, цель которой – восстановление поврежденных тканей и органов и поддержание их нормального функционирования. Ввиду ограниченного регенеративного потенциала высших млекопитающих и практически отсутствующих репаративных механизмов долгое время основой регенеративной медицины была трансплантация тканей и органов, ставшая стандартом в гуманной медицине, но практически нереализованная в медицине ветеринарной ввиду большой неоднородности пациентов и высокой стоимости. Развитие клеточных технологий и тканевой инженерии способствовало появлению нового направления в регенеративной медицине – клеточной терапии – введения в организм живых клеток для достижения лечебного или профилактического эффекта [3].

Целью данного исследования является выявление основных направлений клеточной терапии в ветеринарии, используемых типов клеток и их источников, методов получения, примеров их практического применения в клинической практике и особенностей контроля качества и правового регулирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Для поиска научных публикаций, соответствующих цели исследования, нами был проведен поиск данных в базах Scopus, The Cochrane Database, MEDLINE/ PubMed Data-base, Embase-Elsevier, Web of Science Core Collection, eLIBRARY (2005–2025 гг.) с использованием комбинаций ключевых слов и логического оператора SQL: “cell therapy” AND (“mesenchymal multipotent stem cells in veterinary” OR “MMSC” OR “skin injuries” OR “spinal injury” OR “law regulation” OR “clinical studies in veterinary” OR “efficiency”) Мы воспользовались информацией, представленной в крупных обзорах, а также результатами систематических анализов и научно-исследовательских работ, в которых были данные об эффективности применения клеточной терапии в ветеринарии и особенностях ее правового регулирования.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Источники ММСК

Наиболее часто применяемым в ветеринарии и хорошо изученным типом тип клеток являются мультипотентные мезенхимальные стромальные/стволовые клетки (ММСК). Эти клетки хорошо размножаются *in vitro* и обладают паракринной активностью, определяющей их регенеративные, иммуномодулирующие, противовоспалительные и ангиогенные свойства [4].

Стволовые клетки могут быть получены от взрослых животных или из эмбрионов. Недостатком получения клеток от взрослых животных является отсутствие активности теломеразы, в результате чего они могут делиться, как правило, не более 30–40 раз [5]. При этом в контексте кли-

нического применения стоит отметить пониженную онкогенность ММСК, полученных от взрослых особей [6].

Чаще всего ММСК животных получают из костного мозга и жировой ткани. По литературным данным, ММСК костного мозга чаще применяют в терапии лошадей, а ММСК из жировой ткани – собак. [5]. У лошадей аспират костного мозга получают из грудины или подвздошной кости с помощью иглы для биопсии костного мозга типа Jamshidi 10–11G под контролем УЗИ [7, 8, 9]. Оптимальным количеством аспирата для лошадей является 5 мл. Жировую ткань у лошадей отбирают у основания хвоста, у собак – из серповидной связки или брюшины [5]. Также применяются ММСК из амниотической ткани, получаемой путем кесарева сечения [10] и ММСК из таких тканей и органов, как кожа, кости, пульпа зуба, печень и эпителий яичников [11].

Несмотря на преимущество использования аутологичных ММСК ввиду меньшего риска иммунного конфликта, на практике применение аллогенных ММСК оказывается более приемлемым и оперативным, поскольку не требует ожидания наращивания клеточной массы в лаборатории. Так, аллогенные препараты ММСК из жировой ткани и костного мозга собак и лошадей доступны в Австралии и США [12]. Однако имеются данные о развитии в ряде случаев иммунного воспаления на фоне внутрисуставного введения аллогенных ММСК у лошадей при несовместимости реципиента [13]. Повторное введение аллогенных ММСК таким лошадям приводило к развитию хромоты и сопровождалось повышением количества белка и цитозом в синовиальной жидкости [14]. Таким образом, стоит с осторожностью относиться к повторному назначению аллогенных клеточных препаратов, отдавая предпочтение аутологичным.

Выделение ММСК

Для выделения ММСК из костного мозга аспират в асептических условиях подвергают центрифугированию в градиенте плотности для удаления всех форменных элементов за исключением мононуклеаров среди которых 0,001–0,01 % клеток будут представлены ММСК [15]. Выделенную фракцию клеток помещают в культуральные сосуды (чашки Петри или флаконы) с адгезивной поверхностью, к которой ММСК, в отличие от остальных мононуклеаров, прикрепляются в течение суток, что позволяет отделить их и культивировать в чистом виде [16].

При невозможности проведения градиентного центрифугирования возможен альтернативный вариант выделения ММСК из костного мозга, также основанный на их способности адгезироваться к пластику. Для этого аспират костного мозга в нативном виде вносят в культуральную посуду и на следующие сутки отмывают не прикрепившиеся мононуклеары и форменные элементы. Однако при таком подходе значительно снижается плотность колониеобразующих единиц и требуется большее количество аспирата [17]. Далее в обоих вариантах прикрепившиеся ММСК размножают стандартными методами культуры клеток до требуемого количества [18].

Для выделения ММСК из жировой ткани биоптаты асептически гомогенизируют ножницами и подвергают ферментной обработке раствором трипсина и/или коллагеназы, после чего центрифугируют для отделения клеток от жировой массы. В полученной стромально-васкулярную фракции присутствует более 1% ММСК [19], что делает жировую ткань более ценным источником клеток, чем костный мозг, требующим, однако, более сложной процедуры получения материала. Также сообщается, что ММСК из жировой ткани удваивают популяцию в культуре быстрее, чем ММСК из костного мозга [20, 21].

Поскольку каждый этап работы с клетками может повлиять на их фенотип, крайне важной задачей на наш взгляд является разработка стандартизированных протоколов с учетом видовых особенностей животных.

Нерешенной проблемой клеточного

культивирования является необходимость использования в качестве добавки в питательной среде для клеток сыворотки плодов коров. Помимо вариативности ее биохимического состава в зависимости от производственной партии, фетальная сыворотка обладает иммуногенными свойствами и индуцирует выработку антител при введении ММСК, культивированных в ней. У 89% лошадей, получавших системно инъекции ММСК вырабатывались антитела к ксенопротеинам фетальной сыворотки [13], что повышало риск развития побочных реакций при повторном введении клеток. При использовании клеток, культивированных без фетальной сыворотки таких побочных реакций не наблюдалось [14]. Для снижения подобного риска можно использовать протоколы культивирования клеток в бессывороточных средах или заменять сыворотку в среде для культивирования не менее чем за 48 часов до сбора клеток на аутологичную сыворотку или аутологичный тромболизат. Однако сообщается, что ММСК, культивированные в бессывороточных средах, обладают сниженной имуномодулирующим потенциалом, что ограничивает их терапевтическую эффективность [22]. О влиянии аутологичной сыворотки и тромболизата на иммуномодулирующие свойства ММСК в настоящий момент не известно, но отмечено, что она способствует быстрой адипогенной дифференцировке, поэтому не рекомендуется использовать его для длительного культивирования [23]. Разработка видоспецифичных бессывороточных сред, по нашему мнению, является актуальной задачей для ветеринарии, решение которой будет способствовать значительному прогрессу клеточной терапии.

Транспортировка ММСК

После накопления достаточной для терапии массы клеток их доставляют потребителю. Транспортировка клеток является критическим этапом, так как время доставки, встряхивание, температура и ее перепады значительно влияют на жизнеспособность клеток [5]. Оптимальным считается время транспортировки клеток от момента их сбора до введения пациенту 12-24 часа [5, 24, 25], причем стоит учитывать, что к этому времени количество жизнеспособных клеток может сократиться на 40% [26] Относительно температуры транспортировки мнения данные неоднозначны. Общепринято, что краткосрочно (12-24 часа) при температуре 4–8 °C жизнеспособность большинства типов клеток снижается на 10 % или менее [5] и это наиболее распространенный режим транспортировки. Однако жизнеспособность ММСК костного мозга через 24 часа резко снижается [24]. Сейчас лаборатории вынуждены разрабатывать и проводить самостоятельные тесты и анализировать кривые выживаемости культур для подбора оптимального режима транспортировки, так как отсутствуют стандартизированные протоколы проверки и обеспечения жизнеспособности, качества и стерильности клеточных препаратов, что, по нашему мнению, и отражается в значительной вариативность жизнеспособности клеток, которая, вероятно, влияла на результаты приведенных исследований.

Введение ММСК

Основным способом введения препаратов с ММСК является инъекция. При ее выполнении стоит учитывать диаметр иглы, так как при прохождении через иглу малого диаметра клетки испытывают избыточное напряжение сдвига, что снижает жизнеспособность и пролиферативный потенциал [27]. Для инъекции следует использовать иглы диаметром от 20 G или больше.

Также стоит обратить внимание на добавление в инъекционную смесь таких компонентов как антибиотики и обогащенная тромбоцитами плазма, что часто применяется в практике [5]. Так, добавление гентамицина и амикацина в терапевтических дозах при внутрисуставных инъекциях вызывали гибель более 95 % ММСК лошадей в течение 2 часов [28]. Сообщается также о непредсказуемом влиянии обогащенной тромбоцитами плазмы на пролиферацию и последующую ММСК, что, несомненно, может

влиять на терапевтическую исход процедуры [29].

Терапевтический эффект ММСК

Препараты на основе ММСК обладают регенеративным, противовоспалительным, иммуномодулирующим и трофическим действием [5]. И могут быть использованы в терапии широкого ряда заболеваний. После того, как было продемонстрировано первое успешное применение ММСК для регенерации внутрисуставного повреждения на модели остеоартрита у коз [30], появились многочисленные сообщения об эффективности применения ММСК для лечения внутрисуставных повреждений мягких тканей у лошадей и собак [31, 32], подтвердивших регенеративный эффект ММСК.

Применение ММСК для лечения остеоартрита у лошадей имеет наибольшую актуальность, так как он выявляется у более 80% животных старше 15 лет и до 2/3 чистокровных скаковых лошадей, что делает его одной из основных причин выбраковки и потери работоспособности в этой популяции [33]. Традиционные методы лечения лишь уменьшают симптомы, но не устраняют причины и не обращают развитие заболевания [34]. Применение ММСК в данном случае способствует восстановлению тканей суставов, а также уменьшает применении лекарственных препаратов у спортивных лошадей [5].

Уверенный оптимизм внушают данные об эффективном применении ММСК при лечении травм спинного мозга у собак (таблица 1).

Отсутствие побочных эффектов и высокие оценки по шкале Олби подтверждают эффективность применения ММСК при спинальной травме, однако невозможность гистологической оценки тканей пациентов ввиду этических ограничений и несогласия клиентов затрудняют адекватную оценку и понимание реальных механизмов регенерации в конкретном случае.

В ряде исследований показана эффективность сочетания ММСК с полимерными матриксами, такими как полимолочногликолевая кислота [48], матригель [49], и коллаген [50, 51] при лечении спинальной травмы, что выражалось в значительном улучшении локомоторной функции задних конечностей, регенерации нейронов, а также хорошей интеграции в ткани организма и уменьшении фиброза.

Таким образом, введение ММСК при спинальных травмах у домашних животных имеет потенциалом для применения. Однако трансляционный потенциал накопленных данных ограничен несовершенством имеющихся на сегодняшний день моделей спинальных повреждений и большой вариативностью терапевтических подходов в клинической практике, связанными, с одной стороны, с особенностями разных пород животных, возрастом, весом, тяжестью повреждения, с другой – недостаточностью данных для оптимизации протоколов выделения и культивирования ММСК для ветеринарного применения [52].

Еще одним приложением для терапии ММСК в ветеринарии является лечение ран и кожных заболеваний. Здесь противовоспалительные и регенеративные свойства ММСК открывают многообещающие перспективы, так как лечение обширных кожных ран часто затруднительно, а многие традиционные методы малоэффективны.

В таблице 2 приведены данные об успешных случаях применения ММСК в лечении ран у животных.

Острые и хронические поражения кожи вследствие травм, укусов или аутоиммунных заболеваний часто встречаются в ветеринарной практике. Заживление обширных дефектов кожи представляет собой сложную задачу из-за необходимости комплексного лечения, включающего хирургическую обработку, антибактериальную терапию, защиту окружающих тканей и стимуляцию регенерации кожи. Применение ММСК при повреждениях кожи способствует ангиогенезу, образование грануляционной ткани, реэпителизации, формированию матрикса и ремоделированию кожи [61].

Таблица 1 – Эффективность клинического применения ММСК при спинальной травме

Вид животного, диагноз	Терапия	Эффект
Собака, острая травма спинного мозга [35]	однократное введение в очаг поражения интраоперационно 1×10^7 аллогенных ММСК из жировой ткани	восстановление двигательной активности и сокращение срока госпитализации после операции
Собака, острая травма спинного мозга [36]	однократное введение в очаг поражения интраоперационно 1×10^7 аллогенных ММСК из жировой ткани	восстановление двигательной активности и сокращение срока госпитализации после операции
Собака, хроническое повреждение спинного мозга [37]	однократное введение 1×10^7 аллогенных ММСК из жировой ткани подкожно в области поражения	у 3 собак улучшилась подвижность, 1 собака смогла ходить без поддержки
Кошка, компрессионный перелом позвоночника [38]	однократное введение в очаг поражения интраоперационно 7×10^8 аутологичных ММСК из костного мозга	восстановление паниккулярных рефлексы, реакции на поверхностные и глубокие болевые раздражители, частичное восстановление функции кишечника и мочевого пузыря
Собака, компрессионная травма спинного мозга [39]	однократное введение в очаг поражения интраоперационно 5×10^6 ММСК из амниотической жидкости	улучшение подвижности задних конечностей, ходьба без поддержки
Собака, паралич нижних конечностей [40]	Двукратное введение с интервалов 21 день люмбально $5{,}0 \times 10^6$ аутологичных нейрогенно индуцированных ММСК из костного мозга	У 6 собак восстановление походки, у 2 собак восстановление проприоцепции и ноцицепции
Собака, хроническая травма спинного мозга [41]	Трехкратная инфузия (через 30 дней после операции декомпрессии, две последующие инфузии с интервалом в 3 месяца) 7×10^6 аутологичных ММСК из жировой ткани	частичное восстановление двигательной функции
Собака, подострая травма позвоночника [41]	Трехкратная инфузия (через 30 дней после операции декомпрессии, две последующие инфузии с интервалом в 3 месяца) 7×10^6 аутологичных ММСК из жировой ткани	полное восстановление
Собака, хроническая травма спинного мозга [42]	однократное введение в очаг поражения интраоперационно 2×10^6 аллогенных ММСК из амниотической оболочки, через 15 и 45 дней повторные дозы эпидурально	улучшению неврологического статуса, восстановление проприоцепции и ноцицепции

Собака, компрессионный перелом позвоночника [43]	Четырехкратное введение с интервалом в 15 дней подкожно в область поражения 1×10^6 клеток/мл аллогенных ММСК из костного мозга	улучшение двигательных функций и чувствительности
Собака, параплегия, связанная с интраспинальным кровоизлиянием [44]	Четырехкратное введение с интервалом в 15 дней подкожно в область поражения 1×10^6 клеток/мл аллогенных ММСК из костного мозга	улучшение двигательных функций и чувствительности
Собака, хроническая травма спинного мозга [45]	Четырехкратное введение в течение 30 дней внутривенно 1×10^6 клеток/мл аллогенных ММСК из костного мозга	улучшение по шкале Олби, восстановление функции мочевого пузыря
Собака, травма спинного мозга [46]	Трехкратное введение 1×10^6 аллогенных ММСК каждые 15 дней в течение 45 дней	улучшение двигательных функций и чувствительности, тонуса мочевого пузыря и контроля дефекации
Собака, травма спинного мозга [47]	однократное введение в очаг поражения интраоперационно в нервные корешки 5×10^6 аллогенных ММСК из жировой ткани, повторное введение через 30 минут после операции внутривенно 4×10^6 клеток/кг веса ММСК из жировой ткани, четырехкратное введение эпидурально 4×10^6 клеток/кг веса ММСК из жировой ткани в течение двух недель после операции	значительное улучшение неврологического статуса, 3 собаки смогли самостоятельно передвигаться, у 1 нормализовалось мочеиспускание

Таблица 2 – Эффективность клинического применения ММСК при ранах

Вид животного, диагноз	Терапия	Эффект
24 собаки с острыми и хроническими ранами, полученными в результате занятий спортом или бытовых травм [53]	двукратная с интервалом 10 дней внутрикожная инъекция вокруг раны 3×10^7 аллогенных ММСК из жировой ткани	улучшению процесса заживления: через 90 дней у 97 % собак наблюдалась повторная эпителизация обоих типов ран
Здоровая собака с множественными укусами на коже	однократное введение внутрикожно 1×10^7 аллогенных ММСК из жировой ткани, повторное введение аналогичной дозы на 3 сутки внутрикожно в область обширных ран	более раннее и быстрое заживление, отсутствие воспалительных инфильтратов и восстановление волосяного покрова по сравнению с не обработанными ранами
2 собаки с обширными хроническими язвами кожи	Инфильтрация ран 1×10^5 клеток / $см^2$ площади поражения ММСК из пуповинной крови человека	значительное уменьшение площади поражения

7 собак с хроническими ранами различной этиологии	кондиционированную среду ММСК из амниотической ткани концентрация белка 2,0 мг/мл) наносили на поверхность раны в количестве 1 мл/см^2	площадь раневой поверхности уменьшилась на 98,47 %
Собака большой укушенной раной [56]	Матрикс на основе фибринового клея Tissucol с комбинацией аденовирусных векторов с генами VEGF165 и фактора роста фибробластов-2 (FGF-2), а также 3 × 10^6 ММСК из жировой ткани	регенерация тканей и заживление раны
22 собаки с рефрактерным атопическим дерматитом [57]	аллогенные ММСК из жировой ткани вводили внутривенно в дозе 1,5 × 10^6/кг массы тела	Купирование зуда, улучшение показателей по шкале CADESI -04, показатели оставались и оставались стабильными в течение как минимум 6 месяцев без побочных эффектов
15 собак с атопическим дерматитом [58]	подкожная инъекция ММСК жировой ткани в дозах 5 × 10^5 клеток/кг и 5 × 10^6 клеток/кг в пяти точках на теле в 0, 30 и 60 дни	ММСК в дозе 5 × 10^6 клеток/кг значительно снизило уровень miR-483 через 90 дней. Показатели по шкале CADESI-4 стабильно снижались в течение 30 дней после последней инъекции
16 собак с атопическим дерматитом [59]	внутривенные инъекции 2 × 10^6/кг массы тела аллогенных ММСК из жировой ткани на 10-й, 31-й и 52-й дни	значительное клиническое улучшение и уменьшение толщины эпидермиса в течение 82 дней наблюдения без побочных эффектов
12 собак с атопическим дерматитом [60]	внутримышечное введение 0,5×10^6 клеток/кг аллогенных ММСК из жировой 11 раз в неделю в течение 6 недель	Большинство симптомов заболевания исчезли и/или ослабли к 6-й неделе

Также стоит отметить успешное применение тканеинженерных конструктов на основе ММСК и децеллюляризированных и/или рецеллюляризированных кожных каркасов для лечения кожных повреждений [62].

Контроль качества и правовое регулирование в клеточной терапии

Приведенный анализ литературы показывает возрастающий интерес и увеличение масштабов применения клеточной терапии в ветеринарии. Однако тревожит факт отсутствия отраслевых стандартов клеточной терапии. Мы не обнаружили единый протокол подбора доноров, который позволил бы снижать риски распространения инфекционных заболеваний, протоколы быстрой оценки стерильности препаратов и оценки жизнеспособности клеток перед введением. Составить такие протоколы по совокупности опубликованных данных в настоящее время невозможно в силу их разнородности. Определение истинного терапевтического эффекта ММСК на основе публикуемых клинических данных затруднено из-за малой выборки, в которой используются, например, разные суставы, стадии заболеваний и критерии оценки результатов.

Хотя нами были приведены исследования из разных стран, опубликованные в многочисленных рецензируемых журналах, описывающие использование ММСК клинической практике, ни одним круп-

ным мировым регулирующим органом еще не одобрен ни один препарат на основе ММСК или других клеток животных для клинического применения на момент подготовки рукописи (сентябрь 2025 г.). Таким образом, не существует продуктов на основе клеток животных, которые были бы одобрены официально и могли бы легально продаваться [63]

Ни в одной стране сбор и применение стволовых клеток животных в исследовательских или клинических целях не регулируются. Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств (FDA), являющееся лидером в публикации руководств, на сегодняшний день является единственным регулирующим органом, официально опубликовавшим рекомендации для ветеринарных препаратов, основанных на клеточных технологиях [64].

Также обращает внимание отсутствие единой системы поиска данных о клинических испытаниях в ветеринарии, требования публиковать данные о клинических исследованиях на животных в принципе отсутствуют. Только Американская ветеринарная медицинская ассоциация имеет базу данных исследований в области здоровья животных (AAHSD), но регистрация исследований является добровольной.

Очевидно, что нынешний вариативный подход к доклиническим и клиническим исследованиям не позволяет сделать четких выводов об эффективности того или иного вида клеточной терапии. Если мы хотим в будущем получить безопасные и эффективные клеточные препараты, то практикующие ветеринары и исследователи должны сотрудничать на глобальном уровне. Мы считаем, что необходимо создать форум по клеточной терапии на базе уже существующих профессиональных организаций. Первостепенной задачей его является обеспечение единообразия между исследованиями, которые должны включать стандартизированные протоколы выделения, культивирования, транспортировки, консервации и введения клеточных препаратов. Такое единообразие позволит проводить прямые сравнения между исследованиями и легко объединять данные для метаанализа с целью оценки эффективности клеточной терапии. Вариативность методов и протоколов на наш взгляд является препятствием на пути внедрения безопасных и эффективных ветеринарных клеточных препаратов и блокирующим фактором для инициации рассмотрения их регулирующими органами. Необходима разработка единой формы отчетности, удобной для ветеринарных врачей, которая позволит фиксировать и сохранять результаты, имеющие аналитическое значение для исследователей. Стандартизация и регистрация данных будет способствовать переходу от вариативных и эмпирических методов лечения к стабильным и эффективным.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Регенеративная медицина в ветеринарии активно развивается, пополняясь все новыми данными как фундаментальных исследований, так и данными клинических исследований. В последние годы были достигнуты значительные успехи в разработке безопасных и эффективных методов клеточной терапии. Важные достижения в терапии ММСК получены в лечении ортопедических заболеваний у лошадей и собак, спинальных травм у собак и кошек, острых и хронических поражений кожи у собак. Положительные результаты многих исследований представляют перспективы для будущей клеточной терапии в ветеринарии, но необходимо решение множества проблем. Первостепенной является стандартизация протоколов получения клеток и проведения клинических испытаний и регистрация их результатов. Важным вопросом является создание биобанков клеток. Несмотря на значительный прогресс в последнее время, ветеринарная регенеративная медицина находится только на начальном этапе развития, хотя есть все предпосылки для скорого внедрения ее в рутинную клиническую практику. Клеточная терапия позволит эффективно восполнять дефекты различных тканей, избежать высокоинвазивных вмешательств и

значительно сократить сроки выздоровления. Создание аналогичных доступных препаратов является перспективной задачей для ветеринарии в России, а реализация подхода «Единое здоровье» будет способствовать эффективному развитию отрасли.

PROSPECTS FOR THE APPLICATION OF CELL THERAPY IN VETERINARY MEDICINE

Golovin S.N. [1]* – Researcher (ORCID 0000-0002-1929-6345); **Kirichenko E.Yu.**[2] – Doctor of Biological Sciences, Head of the Department of Bioengineering (ORCID 0000-0003-4703-1616); **Sedova D.A.** [1] – Researcher (ORCID 0000-0003-1194-7251); **Ermakov A.M.**[2] – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Institute of Living Systems (ORCID 0000-0002-9834-3989)

[1] «MedCifr» Research Laboratory

[2] Don State Technical University

**labbiobez@yandex.ru*

Funding: *This research was carried out with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, grant No. FZNE-2024-0004.*

ABSRTACT

The concept of cell therapy is founded on the administration of eukaryotic cells into the organism to treat pathological conditions. While initially developed in human medicine, cell therapy is gaining increasing relevance and is actively evolving within veterinary practice. This study analyzes and summarizes current data on the application of cell therapy in veterinary medicine, providing a comprehensive review of clinical trials and regulatory documents. The objective of our research was to evaluate the prospects for stem cell therapy in veterinary medicine, identify primary areas of clinical investigation, assess therapeutic efficacy, and determine key critical factors affecting practical implementation. Our findings indicate that the majority of studies focus on the effectiveness of mesenchymal stem cells in treating osteoarthritis in horses, spinal injuries in dogs and cats, and both acute and chronic skin injuries in dogs. The principal directions for applying cell therapy in veterinary medicine include the treatment of chronic joint diseases, acute and chronic spinal cord injuries, and skin disorders. This review highlights the most significant advancements in mesenchymal stem cell therapy for veterinary applications and discusses challenges related to quality control and legal regulation in the field. Despite significant recent progress, veterinary regenerative medicine is still in its infancy, although there are all the prerequisites for its rapid introduction into routine clinical practice. Cell therapy will effectively repair defects in various tissues, avoid highly invasive procedures, and significantly reduce recovery times. The development of similar, affordable drugs is a promising goal for veterinary medicine in Russia, and the implementation of the "One Health" approach will facilitate the effective development of the industry.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. 29 September 2004 Symposium.https://www.oneworldonehealth.org/sept2004/owoh_sept04.html. Access date: August 31, 2025

2. Arzi B, Webb TL, Koch TG, et al. Cell Therapy in Veterinary Medicine as a Proof-of-Concept for Human Therapies: Perspectives From the North American Veterinary Regenerative Medicine Association. Front Vet Sci. 2021;8:779109. Published 2021 Nov 30. doi:10.3389/fvets.2021.779109

3. Gage F.H. Cell therapy // Nature. 1998. V. 392. P. 18–24

4. Rodriguez-Fuentes DE, Fernandez-Garza LE, Samia-Meza JA, Barrera-Barrera SA, Caplan AI, Barrera-Saldana HA. Mesenchymal stem cells current clinical applications: a systematic review. Arch Med Res. (2020) 52:93–101. doi: 10.1016/j.arcmed.2020.08.006

5. Bogers S. H. (2018). Cell-Based Therapies for Joint Disease in Veterinary Medicine: What We Have Learned and What We Need to Know. Frontiers in veterinary science, 5, 70. https://doi.org/10.3389/

fvets.2018.00070
6. Bernardo ME, Zaffaroni N, Novara F, Cometa AM, Avanzini MA, Moretta A, et al. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells do not undergo trans-formation after long-term in vitro culture and do not exhibit telomere mainte-nance mechanisms. Cancer Res (2007) 67(19):9142–9. doi:10.1158/0008-5472.CAN-06-4690
7. Kasashima Y, Ueno T, Tomita A, Goodship AE, Smith RK. Optimization of bone marrow aspiration from the equine sternum for the safe recovery of mes-enchymal stem cells. Equine Vet J (2011) 43(3):288–94. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00215.x
8. Lombana KG, Goodrich LR, Phillips JN, Kisiday JD, Ruple-Czerniak A, McIlwraith CW. An investigation of equine mesenchymal stem cell characteris-tics from different harvest sites: more similar than not. Front Vet Sci (2015) 2:67. doi:10.3389/fvets.2015.00067
9. Delling U, Lindner K, Ribitsch I, Jülke H, Brehm W. Comparison of bone mar-row aspiration at the sternum and the tuber coxae in middle-aged horses. Can J Vet Res (2012) 76(1):52–6
10.Humenik, F., Maloveská, M., Hudáková, N., Petroušková, P., Šufliarska, Z., Horňáková, Ľ., Valenčáková, A., Kožár, M., Šišková, B., Mudroňová, D., Bartkovský, M., & Čížková, D. (2023). Impact of Canine Amniotic Mesenchymal Stem Cell Conditioned Media on the Wound Healing Process: In Vitro and In Vivo Study. International journal of molecular sciences, 24(9), 8214. https://doi.org/10.3390/ijms24098214
11.Picazo, R.A.; Rojo, C.; Rodriguez-Quiros, J.; González-Gil, A. Current Advances in Mesenchymal Stem Cell Therapies Applied to Wounds and Skin, Eye, and Neuromuscular Diseases in Companion Animals. Animals 2024, 14, 1363. https://doi.org/10.3390/ani14091363
12.Magellan. Registration to Order Stem Cells Online (2014). Available from: https://www.veterinarystemcells.com.au/login-form/ (Accessed: September 1, 2025
13.Hill JA, Cassano JM, Goodale MB, Fortier LA. Antigenicity of mesen-chymal stem cells in an inflamed joint environment. Am J Vet Res (2017) 78(7):867–75. doi:10.2460/ajvr.78.7.867
14.Joswig AJ, Mitchell A, Cummings KJ, Levine GJ, Gregory CA, Smith R III, et al. Repeated intra-articular injection of allogeneic mesenchymal stem cells causes an adverse response compared to autologous cells in the equine model. Stem Cell Res Ther (2017) 8(1):42. doi:10.1186/s13287-017-0503-8
15.Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science (1999) 284 (5411):143–7. doi:10.1126/science.284.5411.143
16.Taylor SE, Clegg PD. Collection and propagation methods for mesenchymal stromal cells. Vet Clin N Am (2011) 27(2):263–74. doi:10.1016/j.cveq.2011.05.003
17.Chu CR, Fortier LA, Williams A, Payne KA, McCarrel TM, Bowers ME, et al. Minimally manipulated bone marrow concentrate compared with micro-fracture treatment of full-thickness chondral defects: a one-year study in an eq-uine model. J Bone Joint Surg Am (2018) 100(2):138–46. doi:10.2106/JBJS.17.00132
18.Arnhold SJ, Goletz I, Klein H, Stumpf G, Beluche LA, Rohde C, et al. Isolation and characterization of bone marrow-derived equine mesenchymal stem cells. Am J Vet Res (2007) 68(10):1095–105. doi:10.2460/ajvr.68.10.1095
19.Black LL, Gaynor J, Gahring D, Adams C, Aron D, Harman S, et al. Effect of adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on lameness in dogs with chronic osteoarthritis of the coxofemoral joints: a randomized, double-blinded, multicenter, controlled trial. Vet Ther (2007) 8(4):272–84
20.Ranera B, Ordovas L, Lyahyai J, Bernal ML, Fernandes F, Remacha AR, et al. Comparative study of equine bone marrow and adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells. Equine Vet J (2012) 44(1):33–42. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00353.x
21.Kern S, Eichler H, Stoeve J, Kluter H, Bieback K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adi-pose tissue. Stem

Cells (2006) 24(5):1294–301. doi:10.1634/stemcells.2005-0342
22.Clark KC, Kol A, Shahbenderian S, Granick JL, Walker NJ, Borjesson DL. Canine and equine mesenchymal stem cells grown in serum free media have altered immunophenotype. Stem Cell Rev (2016) 12 (2):245–56. doi:10.1007/s12015-015-9638-0
23.Russell KA, Gibson TW, Chong A, Co C, Koch TG. Canine platelet ly-sate is inferior to fetal bovine serum for the isolation and propagation of canine adipose tissue- and bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. PLoS One (2015) 10(9):e0136621. doi:10.1371/journal.pone.0136621
24.Garvican ER, Cree S, Bull L, Smith RK, Dudhia J. Viability of equine mesenchymal stem cells during transport and implantation. Stem Cell Res Ther (2014) 5(4):94. doi:10.1186/scrt483
25.Mercati F, Pascucci L, Curina G, Scocco P, Tardella FM, Dall'Aglio C, et al. Evaluation of storage conditions on equine adipose tissue-derived multipotent mesenchymal stromal cells. Vet J (2014) 200(2):339–42. doi:10.1016/j.tvjl.2014.02.018
26.Bronzini I, Patruno M, Iacopetti I, Martinello T. Influence of temperature, time and different media on mesenchymal stromal cells shipped for clinical application. Vet J (2012) 194(1):121–3. doi:10.1016/j.tvjl.2012.03.010
27.Lang HM, Schnabel LV, Cassano JM, Fortier LA. Effect of needle diameter on the viability of equine bone marrow derived mesenchymal stem cells. Vet Surg (2017) 46 (5):731–7. doi:10.1111/vsu.12639
28.Bohannon LK, Owens SD, Walker NJ, Carrade DD, Galuppo LD, Borjesson DL. The effects of therapeutic concentrations of gentamicin, amikacin and hyaluronic acid on cultured bone marrow-derived equine mesenchymal stem cells. Equine Vet J (2013) 45 (6):732–6. doi:10.1111/evj.12045
29.Dahr M, Amelse L, Neilsen N, Favi P, Carter-Arnold J. Platelet-rich plasma enhances the cellular function of equine bone marrow-derived mesenchymal stem cells. J Stem Cell Res Ther (2015) 5(4):278. doi:10.4172/2157-7633.1000278
30.Murphy JM, Fink DJ, Hunziker EB, Barry FP. Stem cell therapy in a caprine model of osteoarthritis. Arthritis Rheumatism (2003) 48:3464–74. doi:10.1002/art.11365
31.Barker WH, Smith MR, Minshall GJ, Wright IM. Soft tissue injuries of the tarsocrural joint: a retrospective analysis of 30 cases evaluated arthroscopially. Equine Vet J (2013) 45(4):435–41. doi:10.1111/j.2042-3306.2012.00685.x
32.Canapp SO Jr, Leasure CS, Cox C, Ibrahim V, Carr BJ. Partial cranial cruciate ligament tears treated with stem cell and platelet -rich plasma combina-tion therapy in 36 dogs: a retrospective study. Front Vet Sci (2016) 3:112. doi:10.3389/fvets.2016.00112
33.Ireland JL, Clegg PD, McGowan CM, McKane SA, Chandler KJ, Pinch-beck GL. Disease prevalence in geriatric horses in the United Kingdom: veterinary clinical assessment of 200 cases. Equine Vet J (2012) 44 (1):101–6. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00361.x
34.Ferris DJ, Frisbie DD, McIlwraith CW, Kawcak CE. Current joint thera-py usage in equine practice: a survey of veterinarians 2009. Equine Vet J (2011) 43(5):530–5. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00324.x
35.Kim, Y.; Lee, S. H.; Kim, W. H.; Kweon, O.K. Transplantation of adipose derived mesenchymal stem cells for acute thoracolumbar disc disease with no deep pain perception in dogs. J. Vet. Sci. 2016, 17, 123–126.
36.Bach, F.S.; Rebelatto, C.L.K.; Fracaro, L.; Senegalia, A.C.; Fragoso, F.Y.I.; Daga, D.R.; Brofman, P.R.S.; Pimpão, C. T.; Engracia Filho, J.R.; Monti-ani-Ferreira, F.; et al. Comparison of the efficacy of surgical decompression alone and combined with canine adipose tissue-derived stem cell transplantation in dogs with acute thoracolumbar disk disease and spinal cord injury. Front. Vet. Sci. 2019, 6, 383.
37.Escalhao, C.C.M.; Ramos, I.P.; Hochman -Mendez, C.; Brunswick, T.H.K.; Souza, S.A.L.; Gutfilen, B.; Dos Santos Goldenberg, R.C.; Coelho-Sampaio, T. Safety of allogeneic canine adipose tissue-derived mesenchymal stem cell intraspinal transplantation in dogs with chronic spinal cord injury. Stem Cells Int. 2017, 2017, 3053759.

38.Penha, E.M.; Aguiar, P. H.; Barrouin-Melo, S. M.; de Lima, R. S.; da Silveira, A.C.; Otelo, A.R.; Pinheiro, C. M.; Ribeiro-Dos-Santos, R.; Soares, M.B. Clinical neurofunctional rehabilitation of a cat with spinal cord injury after hemilaminectomy and autologous stem cell transplantation. Int. J Stem Cells 2012, 5, 146–150.
39.Kim, E.Y.; Kil, T.Y.; Kim, M.K. Case report: Amniotic fluid-derived mesenchymal stem cell treatment in a dog with a spinal cord injury. Vet. Anim. Sci. 2023, 22, 100318
40.Besalti, O.; Aktas, Z.; Can, P.; Akpinar, E.; Elcin, A. E.; Elcin, Y.M. The use of autologous neurogenically-induced bone marrow-derived mesenchymal stem cells for the treatment of paraplegic dogs without nociception due to spinal trauma. J. Vet. Med. Sci. 2016, 78, 1465–1473.
41.Branco, E.; Alves, J. G. R.; Pinheiro, L.L.; Coutinho, L.N.; Gomes, C.R.M.; Galvão, G. R.; de Oliveira Dos Santos, G.R.; Moreira, L.F.M.; David, M.B.M.; Martins, D.M.; et al. Can paraplegia by disruption of the spinal cord tissue be reversed? The signs of a new perspective. Anat. Rec. 2020, 303, 1812–1820.
42.Orlandin, J.R.; Gomes, I.D.S.; Sallum Leandro, S. F.; Fuertes Cagnim, A.; Casals, J.B.; Carregaro, A.B.; Freitas, S. H.; Machado, L.C.; Reis Castiglioni, M.C.; Garcia Alves, A. L.; et al. Treatment of chronic spinal cord injury in dogs using amniotic membrane-derived stem cells: Preliminary results. Stem Cells Cloning 2021, 14, 39–49.
43.Sharun, K.; Rawat, T.; Kumar, R.; Chandra, V.; Saxena, A.C.; Pawde, A.M.; Kinjavdekar, P.; Amarpal; Sharma, G.T. Clinical evaluation following the percutaneous transplantation of allogenic bone marrow-derived mesenchymal stem cells (aBM-MSC) in dogs affected by vertebral compression fracture. Vet. Anim. Sci. 2020, 10, 100152.
44.Sharun, K.; Kumar, R.; Chandra, V.; Saxena, A.C.; Pawde, A.M.; Kinjavdekar, P.; Dhama, K.; Amarpal; Sharma, G.T. Percutaneous transplantation of allogenic bone marrow-derived mesenchymal stem cells for the management of paraplegia secondary to Hansen type I intervertebral disc herniation in a Beagle dog. Iran. J. Vet. Res. 2021, 22, 161–166.
45.Vikartovska, Z.; Kuricova, M.; Farbakova, J.; Liptak, T.; Mudronova, D.; Humenik, F.; Madari, A.; Maloveska, M.; Sykova, E.; Cizkova, D. Stem cell conditioned medium treatment for canine spinal cord injury: Pilot feasibility study. Int. J. Mol. Sci. 2020, 21, 5129.
46.Bhat, I.A.; Sivanarayanan, T.B.; Somal, A.; Pandey, S.; Bharti, M.K.; Panda, B.S.K.; Indu, B.; Verma, M. J. A.; Sonwane, A.; Kumar, G.S.; et al. An allogenic therapeutic strategy for canine spinal cord injury using mesenchymal stem cells. J Cell. Physiol. 2019, 234, 2705–2718.
47.Chen, C.C.; Yang, S. F.; Wang, I. K.; Hsieh, S. Y.; Yu, J. X.; Wu, T. L.; Hu-ong, W. J.; Su, M.H.; Yang, H. L.; Chang, P. C.; et al. The long-term efficacy study of multiple allogeneic canine adipose tissue-derived mesenchymal stem cells transplantations combined with surgery in four dogs with lumbosacral spinal cord injury. Cell Transplant. 2022, 31, 9636897221081487.
48.Kim, B.G.; Kang, Y. M.; Phi, J. H.; Kim, Y.H.; Hwang, D.H.; Choi, J.Y.; Ryu, S.; Elastal, A.E.; Paek, S. H.; Wang, K.C.; et al. Implantation of polymer scaffolds seeded with neural stem cells in a canine spinal cord injury model. Cytotherapy 2010, 12, 841–845.
49.Ryu, H.H.; Kang, B. J.; Park, S. S.; Kim, Y.; Sung, G. J.; Woo, H.M.; Kim, W. H.; Kweon, O.K. Comparison of mesenchymal stem cells derived from fat, bone marrow, Wharton's jelly, and umbilical cord blood for treating spinal cord injuries in dogs. J. Vet. Med. Sci. 2012, 74, 1617–1630.
50.Han, S.; Xiao, Z.; Li, X.; Zhao, H.; Wang, B.; Qiu, Z.; Li, Z.; Mei, X.; Xu, B.; Fan, C.; et al. Human placenta-derived mesenchymal stem cells loaded on linear ordered collagen scaffold improves functional recovery after complexly transected spinal cord injury in canine. Sci. China Life Sci. 2018, 61, 2–13.
51.Deng, W.S.; Yang, K.; Liang, B.; Liu, Y. F.; Chen, X.Y.; Zhang, S. Colla-gen/heparin sulfate scaffold combined with mesenchymal stem cells treatment for canines with spinal

cord injury: A pilot feasibility study. J. Orthop. Surg. 2021, 29, 23094990211012293
52.Abdallah, A.N., Shamaa, A.A., El-Tookhy, O.S. et al. Comparison be-tween stem cell therapy and stem cell derived exosomes on induced multiple sclerosis in dogs. BMC Vet Res 20, 90 (2024). https://doi.org/10.1186/s12917-024-03920-4
53.Enciso, N.; Avedillo, L.; Fermin, M. L.; Fragio, C.; Tejero, C. Cutaneous wound healing: Canine allogeneic ASC therapy. Stem Cell Res. Ther. 2020, 11, 261
54.Enciso, N.; Avedillo, L.; Fermin, M. L.; Fragio, C.; Tejero, C. Regenerative potential of allogeneic adipose tissue-derived mesenchymal cells in canine cutaneous wounds. Acta Vet. Scand. 2020, 62, 13.
55.Ribeiro, J.; Pereira, T.; Amorim, I.; Caseiro, A.R.; Lopes, M.A.; Lima, J.; Gartner, A.; Santos, J.D.; Bártolo, P. J.; Rodrigues, J.M.; et al. Cell therapy with human MSCs isolated from the umbilical cord Wharton jelly associated to a PVA membrane in the treatment of chronic skin wounds. Int. J. Med. Sci. 2014, 11, 979–987.
56.Zakirova, E.Y.; Shalimov, D.V.; Garanina, E.E.; Zhuravleva, M.N.; Rutland, C.S.; Rizvanov, A.A. Use of biologically active 3D matrix for extensive skin defect treatment in veterinary practice: Case report. Front. Vet. Sci. 2019, 6, 76.
57.Villatoro, A.J.; Hermida-Prieto, M.; Fernández, V.; Fariñas, F.; Alcoholado, C.; Rodríguez-García, M.I.; Mariñas-Pardo, L.; Becerra, J. Allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cell therapy in dogs with refractory atopic dermatitis: Clinical efficacy and safety. Vet. Rec. 2018, 183, 654
58.Kaur, G.; Ramirez, A.; Xie, C.; Clark, D.; Dong, C.; Maki, C.; Ramos, T.; Izadyar, F.; Najera, S.O.L.; Harb, J.; et al. A double-blinded placebo-controlled evaluation of adipose-derived mesenchymal stem cells in the treatment of canine atopic dermatitis. Vet. Res. Commun. 2022, 46, 251–260
59.de Oliveira Ramos, F.; Malard, P. F.; Brunel, H.D.S.S.; Paludo, G. R.; de Castro, M.B.; da Silva, P.H.S.; da Cunha Barreto-Vianna, A.R. Canine atopic dermatitis attenuated by mesenchymal stem cells. J Adv. Vet. Anim. Res. 2020, 7, 554–565.
60.Enciso, N.; Amiel, J.; Pando, J.; Enciso, J. Multidose intramuscular al-logeneic adipose stem cells decrease the severity of canine atopic dermatitis: A pilot study. Vet. World 2019, 12, 1747–1754.
61.Chen, S.Y.; Yang, R. L.; Wu, X.C.; Zhao, D.Z.; Fu, S.P.; Lin, F.Q.; Li, L.Y.; Yu, L.M.; Zhang, Q.; Zhang, T. Mesenchymal stem cell transplantation: Neuroprotection and nerve regeneration after spinal cord injury. J. Inflamm. Res. 2023, 16, 4763–4776
62.Dall'Olio, A.J.; Matias, G.S.S.; Carreira, A.C.O.; de Carvalho, H. J. C.; van den Broek Campanelli, T.; da Silva, T.S.; da Silva, M.D.; Abreu-Silva, A. L.; Miglino, M.A. Biological graft as an innovative biomaterial for complex skin wound treatment in dogs: A preliminary report. Materials 2022, 15, 6027
63.FDA. Cell and Tissue Products for Animals (2025). Available from: https://www.fda.gov/animal-veterinary/biotechnology-products-cvm-animals-and-animal-food/cell-and-tissue-products-animals (Accessed September 1, 2025)
64.FDA. Guidance for Industry: Cell-Based Products for Animal Use. Rockville, MD: United States Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine (2015). Available from: https://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/GuidanceComplianceEnforcement/GuidanceforIndustry/UCM405679.pdf (Accessed September 1, 2025).

REFERENCES

1. 29 September 2004 Symposium.https://www.oneworldonehealth.org/sept2004/owoh_sept04.html. Access date: August 31, 2025
2. Arzi B, Webb TL, Koch TG, et al. Cell Therapy in Veterinary Medicine as a Proof-of-Concept for Human Therapies: Perspectives From the North American Veterinary Regenerative Medicine Association. Front Vet Sci. 2021;8:779109. Published 2021 Nov 30. doi:10.3389/fvets.2021.779109
3. Gage F.H. Cell therapy // Nature. 1998. V. 392. P. 18–24
4. Rodriguez-Fuentes DE, Fernandez-Garza LE, Samia-Meza JA, Barrera-Barrera SA,

Caplan AI, Barrera-Saldana HA. Mesenchymal stem cells current clinical applications: a systematic review. Arch Med Res. (2020) 52:93–101. doi: 10.1016/j.arcmed.2020.08.006

5. Bogers S. H. (2018). Cell-Based Therapies for Joint Disease in Veterinary Medicine: What We Have Learned and What We Need to Know. Frontiers in veterinary science, 5, 70. https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00070

6. Bernardo ME, Zaffaroni N, Novara F, Cometa AM, Avanzini MA, Moretta A, et al. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells do not undergo trans-formation after long-term in vitro culture and do not exhibit telomere mainte-nance mechanisms. Cancer Res (2007) 67(19):9142–9. doi:10.1158/0008-5472.CAN-06-4690

7. Kasashima Y, Ueno T, Tomita A, Goodship AE, Smith RK. Optimization of bone marrow aspiration from the equine sternum for the safe recovery of mes-enchymal stem cells. Equine Vet J (2011) 43(3):288–94. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00215.x

8. Lombana KG, Goodrich LR, Phillips JN, Kisiday JD, Ruple-Czerniak A, McIlwraith CW. An investigation of equine mesenchymal stem cell characteris-tics from different harvest sites: more similar than not. Front Vet Sci (2015) 2:67. doi:10.3389/fvets.2015.00067

9. Delling U, Lindner K, Ribitsch I, Jülke H, Brehm W. Comparison of bone mar-row aspiration at the sternum and the tuber coxae in middle-aged horses. Can J Vet Res (2012) 76(1):52–6

10.Humenik, F., Maloveská, M., Hudáková, N., Petroušková, P., Šufliarska, Z., Horňáková, Ľ., Valenčáková, A., Kožár, M., Šišková, B., Mudroňová, D., Bartkovský, M., & Čížková, D. (2023). Impact of Canine Amniotic Mesenchymal Stem Cell Conditioned Media on the Wound Healing Process: In Vitro and In Vivo Study. International journal of molecular sciences, 24(9), 8214. https://doi.org/10.3390/ijms24098214

11.Picazo, R.A.; Rojo, C.; Rodriguez-Quiros, J.; González-Gil, A. Current Advances in Mesenchymal Stem Cell Therapies Applied to Wounds and Skin, Eye, and Neuromuscular Diseases in Companion Animals. Animals 2024, 14, 1363. https://doi.org/10.3390/ani14091363

12.Magellan. Registration to Order Stem Cells Online (2014). Available from: https://www.veterinarystemcells.com.au/login-form/ (Accessed: September 1, 2025

13.Hill JA, Cassano JM, Goodale MB, Fortier LA. Antigenicity of mesen-chymal stem cells in an inflamed joint environment. Am J Vet Res (2017) 78(7):867–75. doi:10.2460/ajvr.78.7.867

14.Joswig AJ, Mitchell A, Cummings KJ, Levine GJ, Gregory CA, Smith R III, et al. Repeated intra-articular injection of allogeneic mesenchymal stem cells causes an adverse response compared to autologous cells in the equine model. Stem Cell Res Ther (2017) 8(1):42. doi:10.1186/s13287-017-0503-8

15.Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science (1999) 284 (5411):143–7. doi:10.1126/science.284.5411.143

16.Taylor SE, Clegg PD. Collection and propagation methods for mesenchymal stromal cells. Vet Clin N Am (2011) 27(2):263–74. doi:10.1016/j.cveq.2011.05.003

17.Chu CR, Fortier LA, Williams A, Payne KA, McCarrel TM, Bowers ME, et al. Minimally manipulated bone marrow concentrate compared with micro-fracture treatment of full-thickness chondral defects: a one-year study in an eq-uine model. J Bone Joint Surg Am (2018) 100(2):138–46. doi:10.2106/JBJS.17.00132

18.Arnhold SJ, Goletz I, Klein H, Stumpf G, Beluche LA, Rohde C, et al. Isolation and characterization of bone marrow-derived equine mesenchymal stem cells. Am J Vet Res (2007) 68(10):1095–105. doi:10.2460/ajvr.68.10.1095

19.Black LL, Gaynor J, Gahring D, Adams C, Aron D, Harman S, et al. Effect of adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on lameness in dogs with chronic osteoarthritis of the coxofemoral joints: a randomized, double-blinded, multicenter, controlled trial. Vet Ther (2007) 8(4):272–84

20.Ranera B, Ordovas L, Lyahyai J, Bernal ML, Fernandes F, Remacha AR, et al. Comparative study of equine bone marrow and adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells. Equine Vet J (2012) 44(1):33–42. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00353.x
21.Kern S, Eichler H, Stoeve J, Kluter H, Bieback K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adi-pose tissue. Stem Cells (2006) 24(5):1294–301. doi:10.1634/stemcells.2005-0342
22.Clark KC, Kol A, Shahbenderian S, Granick JL, Walker NJ, Borjesson DL. Canine and equine mesenchymal stem cells grown in serum free media have altered immunophenotype. Stem Cell Rev (2016) 12 (2):245–56. doi:10.1007/s12015-015-9638-0
23.Russell KA, Gibson TW, Chong A, Co C, Koch TG. Canine platelet ly-sate is inferior to fetal bovine serum for the isolation and propagation of canine adipose tissue- and bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. PLoS One (2015) 10(9):e0136621. doi:10.1371/journal.pone.0136621
24.Garvican ER, Cree S, Bull L, Smith RK, Dudhia J. Viability of equine mesenchymal stem cells during transport and implantation. Stem Cell Res Ther (2014) 5(4):94. doi:10.1186/scrt483
25.Mercati F, Pascucci L, Curina G, Scocco P, Tardella FM, Dall'Aglio C, et al. Evaluation of storage conditions on equine adipose tissue-derived multipotent mesenchymal stromal cells. Vet J (2014) 200(2):339–42. doi:10.1016/j.tvjl.2014.02.018
26.Bronzini I, Patruno M, Iacopetti I, Martinello T. Influence of temperature, time and different media on mesenchymal stromal cells shipped for clinical application. Vet J (2012) 194(1):121–3. doi:10.1016/j.tvjl.2012.03.010
27.Lang HM, Schnabel LV, Cassano JM, Fortier LA. Effect of needle diameter on the viability of equine bone marrow derived mesenchymal stem cells. Vet Surg (2017) 46 (5):731–7. doi:10.1111/vsu.12639
28.Bohannon LK, Owens SD, Walker NJ, Carrade DD, Galuppo LD, Borjesson DL. The effects of therapeutic concentrations of gentamicin, amikacin and hyaluronic acid on cultured bone marrow-derived equine mesenchymal stem cells. Equine Vet J (2013) 45 (6):732–6. doi:10.1111/evj.12045
29.Dahr M, Amelse L, Neilsen N, Favi P, Carter-Arnold J. Platelet-rich plasma enhances the cellular function of equine bone marrow-derived mesenchymal stem cells. J Stem Cell Res Ther (2015) 5(4):278. doi:10.4172/2157-7633.1000278
30.Murphy JM, Fink DJ, Hunziker EB, Barry FP. Stem cell therapy in a caprine model of osteoarthritis. Arthritis Rheumatism (2003) 48:3464–74. doi:10.1002/art.11365
31.Barker WH, Smith MR, Minshall GJ, Wright IM. Soft tissue injuries of the tarsocrural joint: a retrospective analysis of 30 cases evaluated arthroscopially. Equine Vet J (2013) 45(4):435–41. doi:10.1111/j.2042-3306.2012.00685.x
32.Canapp SO Jr, Leasure CS, Cox C, Ibrahim V, Carr BJ. Partial cranial cruciate ligament tears treated with stem cell and platelet -rich plasma combina-tion therapy in 36 dogs: a retrospective study. Front Vet Sci (2016) 3:112. doi:10.3389/fvets.2016.00112
33.Ireland JL, Clegg PD, McGowan CM, McKane SA, Chandler KJ, Pinch-beck GL. Disease prevalence in geriatric horses in the United Kingdom: veterinary clinical assessment of 200 cases. Equine Vet J (2012) 44 (1):101–6. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00361.x
34.Ferris DJ, Frisbie DD, McIlwraith CW, Kawcak CE. Current joint thera-py usage in equine practice: a survey of veterinarians 2009. Equine Vet J (2011) 43(5):530–5. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00324.x
35.Kim, Y.; Lee, S. H.; Kim, W. H.; Kweon, O.K. Transplantation of adipose derived mesenchymal stem cells for acute thoracolumbar disc disease with no deep pain perception in dogs. J. Vet. Sci. 2016, 17, 123–126.
36.Bach, F.S.; Rebelatto, C.L.K.; Fracaro, L.; Senegalia, A.C.; Fragoso, F.Y.I.; Daga, D.R.; Brofman, P.R.S.; Pimpão, C. T.; Engracia Filho, J.R.; Monti-ani-Ferreira, F.; et al. Comparison of the efficacy of surgical decompression alone and combined with canine adipose tissue-derived stem cell transplantation in dogs with acute thoracolumbar

disk disease and spinal cord injury. Front. Vet. Sci. 2019, 6, 383.
37.Escalhao, C.C.M.; Ramos, I.P.; Hochman-Mendez, C.; Brunswick, T.H.K.; Souza, S.A.L.; Gutfilen, B.; Dos Santos Goldenberg, R.C.; Coelho-Sampaio, T. Safety of allogeneic canine adipose tissue-derived mesenchymal stem cell intraspinal transplantation in dogs with chronic spinal cord injury. Stem Cells Int. 2017, 2017, 3053759.
38.Penha, E.M.; Aguiar, P. H.; Barrouin-Melo, S. M.; de Lima, R. S.; da Silveira, A.C.; Otelo, A.R.; Pinheiro, C. M.; Ribeiro-Dos-Santos, R.; Soares, M.B. Clinical neurofunctional rehabilitation of a cat with spinal cord injury after hemilaminectomy and autologous stem cell transplantation. Int. J Stem Cells 2012, 5, 146–150.
39.Kim, E.Y.; Kil, T.Y.; Kim, M.K. Case report: Amniotic fluid-derived mesenchymal stem cell treatment in a dog with a spinal cord injury. Vet. Anim. Sci. 2023, 22, 100318
40.Besalti, O.; Aktas, Z.; Can, P.; Akpinar, E.; Elcin, A. E.; Elcin, Y.M. The use of autologous neurogenically-induced bone marrow-derived mesenchymal stem cells for the treatment of paraplegic dogs without nociception due to spinal trauma. J. Vet. Med. Sci. 2016, 78, 1465–1473.
41.Branco, E.; Alves, J. G. R.; Pinheiro, L.L.; Coutinho, L.N.; Gomes, C.R.M.; Galvão, G. R.; de Oliveira Dos Santos, G.R.; Moreira, L.F.M.; David, M.B.M.; Martins, D.M.; et al. Can paraplegia by disruption of the spinal cord tissue be reversed? The signs of a new perspective. Anat. Rec. 2020, 303, 1812–1820.
42.Orlandin, J.R.; Gomes, I.D.S.; Sallum Leandro, S. F.; Fuertes Cagnim, A.; Casals, J.B.; Carregaro, A.B.; Freitas, S. H.; Machado, L.C.; Reis Castiglioni, M.C.; Garcia Alves, A. L.; et al. Treatment of chronic spinal cord injury in dogs using amniotic membrane-derived stem cells: Preliminary results. Stem Cells Cloning 2021, 14, 39–49.
43.Sharun, K.; Rawat, T.; Kumar, R.; Chandra, V.; Saxena, A.C.; Pawde, A.M.; Kinjavdekar, P.; Amarpal; Sharma, G.T. Clinical evaluation following the percutaneous transplantation of allogenic bone marrow-derived mesenchymal stem cells (aBM-MSC) in dogs affected by vertebral compression fracture. Vet. Anim. Sci. 2020, 10, 100152.
44.Sharun, K.; Kumar, R.; Chandra, V.; Saxena, A.C.; Pawde, A.M.; Kinjavdekar, P.; Dhama, K.; Amarpal; Sharma, G.T. Percutaneous transplantation of allogenic bone marrow-derived mesenchymal stem cells for the management of paraplegia secondary to Hansen type I intervertebral disc herniation in a Beagle dog. Iran. J. Vet. Res. 2021, 22, 161–166.
45.Vikartovska, Z.; Kuricova, M.; Farbakova, J.; Liptak, T.; Mudronova, D.; Humenik, F.; Madari, A.; Maloveska, M.; Sykova, E.; Cizkova, D. Stem cell conditioned medium treatment for canine spinal cord injury: Pilot feasibility study. Int. J. Mol. Sci. 2020, 21, 5129.
46.Bhat, I.A.; Sivanarayanan, T.B.; Somal, A.; Pandey, S.; Bharti, M.K.; Panda, B.S.K.; Indu, B.; Verma, M. J. A.; Sonwane, A.; Kumar, G.S.; et al. An allogenic therapeutic strategy for canine spinal cord injury using mesenchymal stem cells. J Cell. Physiol. 2019, 234, 2705–2718.
47.Chen, C.C.; Yang, S. F.; Wang, I. K.; Hsieh, S. Y.; Yu, J. X.; Wu, T. L.; Hu-ong, W. J.; Su, M.H.; Yang, H. L.; Chang, P. C.; et al. The long-term efficacy study of multiple allogeneic canine adipose tissue-derived mesenchymal stem cells transplantations combined with surgery in four dogs with lumbosacral spinal cord injury. Cell Transplant. 2022, 31, 9636897221081487.
48.Kim, B.G.; Kang, Y. M.; Phi, J. H.; Kim, Y.H.; Hwang, D.H.; Choi, J.Y.; Ryu, S.; Elastal, A.E.; Paek, S. H.; Wang, K.C.; et al. Implantation of polymer scaffolds seeded with neural stem cells in a canine spinal cord injury model. Cytotherapy 2010, 12, 841–845.
49.Ryu, H.H.; Kang, B. J.; Park, S. S.; Kim, Y.; Sung, G. J.; Woo, H.M.; Kim, W. H.; Kweon, O.K. Comparison of mesenchymal stem cells derived from fat, bone marrow, Wharton's jelly, and umbilical cord blood for treating spinal cord injuries in dogs. J. Vet. Med. Sci. 2012, 74, 1617–1630.
50.Han, S.; Xiao, Z.; Li, X.; Zhao, H.; Wang, B.; Qiu, Z.; Li, Z.; Mei, X.; Xu, B.;

Fan, C.; et al. Human placenta-derived mesenchymal stem cells loaded on linear ordered collagen scaffold improves functional recovery after complexly transected spinal cord injury in canine. Sci. China Life Sci. 2018, 61, 2–13.
51.Deng, W.S.; Yang, K.; Liang, B.; Liu, Y. F.; Chen, X.Y.; Zhang, S. Colla-gen/heparin sulfate scaffold combined with mesenchymal stem cells treatment for canines with spinal cord injury: A pilot feasibility study. J. Orthop. Surg. 2021, 29, 23094990211012293
52.Abdallah, A.N., Shamaa, A.A., El-Tookhy, O.S. et al. Comparison be-tween stem cell therapy and stem cell derived exosomes on induced multiple sclerosis in dogs. BMC Vet Res 20, 90 (2024). https://doi.org/10.1186/s12917-024-03920-4
53.Enciso, N.; Avedillo, L.; Fermin, M. L.; Fragio, C.; Tejero, C. Cutaneous wound healing: Canine allogeneic ASC therapy. Stem Cell Res. Ther. 2020, 11, 261
54.Enciso, N.; Avedillo, L.; Fermin, M. L.; Fragio, C.; Tejero, C. Regenerative potential of allogeneic adipose tissue-derived mesenchymal cells in canine cutaneous wounds. Acta Vet. Scand. 2020, 62, 13.
55.Ribeiro, J.; Pereira, T.; Amorim, I.; Caseiro, A.R.; Lopes, M.A.; Lima, J.; Gartner, A.; Santos, J.D.; Bártolo, P. J.; Rodrigues, J.M.; et al. Cell therapy with human MSCs isolated from the umbilical cord Wharton jelly associated to a PVA membrane in the treatment of chronic skin wounds. Int. J. Med. Sci. 2014, 11, 979–987.
56.Zakirova, E.Y.; Shalimov, D.V.; Garanina, E.E.; Zhuravleva, M.N.; Rutland, C.S.; Rizvanov, A.A. Use of biologically active 3D matrix for extensive skin defect treatment in veterinary practice: Case report. Front. Vet. Sci. 2019, 6, 76.
57.Villatoro, A.J.; Hermida-Prieto, M.; Fernández, V.; Fariñas, F.; Alcoholado, C.; Rodríguez-García, M.I.; Mariñas-Pardo, L.; Becerra, J. Allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cell therapy in dogs with refractory atopic dermatitis: Clinical efficacy and safety. Vet. Rec. 2018, 183, 654
58.Kaur, G.; Ramirez, A.; Xie, C.; Clark, D.; Dong, C.; Maki, C.; Ramos, T.; Izadyar, F.; Najera, S.O.L.; Harb, J.; et al. A double-blinded placebo-controlled evaluation of adipose-derived mesenchymal stem cells in the treatment of canine atopic dermatitis. Vet. Res. Commun. 2022, 46, 251–260
59.de Oliveira Ramos, F.; Malard, P. F.; Brunel, H.D.S.S.; Paludo, G. R.; de Castro, M.B.; da Silva, P.H.S.; da Cunha Barreto-Vianna, A.R. Canine atopic dermatitis attenuated by mesenchymal stem cells. J Adv. Vet. Anim. Res. 2020, 7, 554–565.
60.Enciso, N.; Amiel, J.; Pando, J.; Enciso, J. Multidose intramuscular al-logeneic adipose stem cells decrease the severity of canine atopic dermatitis: A pilot study. Vet. World 2019, 12, 1747–1754.
61.Chen, S.Y.; Yang, R. L.; Wu, X.C.; Zhao, D.Z.; Fu, S.P.; Lin, F.Q.; Li, L.Y.; Yu, L.M.; Zhang, Q.; Zhang, T. Mesenchymal stem cell transplantation: Neuroprotection and nerve regeneration after spinal cord injury. J. Inflamm. Res. 2023, 16, 4763–4776
62.Dall'Olio, A.J.; Matias, G.S.S.; Carreira, A.C.O.; de Carvalho, H. J. C.; van den Broek Campanelli, T.; da Silva, T.S.; da Silva, M.D.; Abreu-Silva, A. L.; Miglino, M.A. Biological graft as an innovative biomaterial for complex skin wound treatment in dogs: A preliminary report. Materials 2022, 15, 6027
63.FDA. Cell and Tissue Products for Animals (2025). Available from: https://www.fda.gov/animal-veterinary/biotechnology-products-cvm-animals-and-animal-food/cell-and-tissue-products-animals (Accessed September 1, 2025)
64.FDA. Guidance for Industry: Cell-Based Products for Animal Use. Rockville, MD: United States Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine (2015). Available from: https://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/GuidanceComplianceEnforcement/GuidanceforIndustry/UCM405679.pdf (Accessed September 1, 2025).

УДК: 616.127-06:636.7
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.637

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ДИЛАТАЦИОННОЙ КАРДИОМИОПАТИИ И СОПУТСТВУЮЩИХ ЕЙ ОСЛОЖНЕНИЙ У СОБАК

Погодаева К.А. – асп. каф. внутренних болезней животных им. А. В. Синева (ORCID 0009-0008-4594-4271); **Прусаков А.В.*** – д-р ветеринар. наук, доц., зав. каф. внутренних болезней животных им. Синева А.В. (ORCID 0000-0001-5582-5155); **Яшин А.В.** – д-р ветеринар. наук, проф., проф. каф. внутренних болезней животных им. Синева А.В. (ORCID 0000-0002-3614-4730).

** prusakovv-av@mail.ru*

Ключевые слова: *собаки, кардиология, кардиомиопатии, дилатационная кардиомиопатия, осложнения, нарушения проводимости.*

Keywords: *dogs, cardiology, cardiomyopathy, dilated cardiomyopathy, complications, conduction disorders.*

Поступила: 15.06.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Патологии сердечно-сосудистой системы у мелких домашних животных регистрируются достаточно часто. В особенности это касается собак крупных и гигантских пород. Врожденные пороки выявляются гораздо реже. По большей части у них встречаются приобретенные патологии, касающиеся структурных изменений миокарда – кардиомиопатии. При этом, до настоящего времени вопрос о частоте встречаемости отдельных видов кардиологических патологий у собак, в частности дилатационной кардиомиопатии и ее сопутствующих осложнений остается открытым. Исходя из литературных данных патологии сердца различного генеза регистрируются у 32,4% собак. При этом большинство из них приходится на приобретенные. Учитывая вышеизложенное, была поставлена цель – выявить частоту встречаемости дилатационной кардиомиопатии и сопутствующих ей осложнений у собак крупных и гигантских пород, проживающих в условиях мегаполиса. Для ее достижения был проведен сравнительный анализ базы данных ветеринарной клиники «LapinoVet» города Санкт-Петербург за период с 2022 по 2024 годы. Для этого было отобрано 100 амбулаторных карт собак с патологиями сердца, массой тела от 25,0 кг и более, без учета их породной и половой принадлежности, при возрастной выборке от полутора до 14 лет. По результатам проведенных исследований было установлено, что самой часто регистрируемой патологией миокарда у собак крупных и гигантских пород, проживающих в условиях мегаполиса, является дилатационная кардиомиопатия. Последняя достаточно часто осложнена нарушениями проводимости и сердечного ритма. При этом нарушение проводимости чаще всего сопряжено с гемодинамическими изменениям на стадии С.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Исходя из литературных данных патологии сердца различного генеза регистрируются у 32,4% собак [1]. При этом большинство из них приходится на приобретенные [2,3]. Причинами приобретенных кардиомиопатий могут быть различные факторы, например, метаболические и гормональные нарушения, инфекции, интоксикации [4]. В некоторых случаях они обусловлены генетической предрасположенностью. Повреждению и распаду кардиомиоцитов способствует нарушения в составе рациона. В частности, дефицит кальция, калия, магния и фосфатов. У собак крупных и гигантских пород они в основном связаны со структурными изменениями сердечной мышцы [5], а характер повреждения миокарда, эндокарда, клапанного аппарата, а также степень структурно-функциональных изменений камер сердца и нарушения его гемодинамики обуславливают тяжесть возникающей сердечной недостаточности [6]. При этом, до настоящего времени вопрос о частоте встречаемости отдельных видов кардиологических патологий у собак, в частности дилатационной кардиомиопатии и ее сопутствующих осложнений остается открытым.

Учитывая вышеизложенное, нами была поставлена цель – выявить частоту встречаемости дилатационной кардиомиопатии и сопутствующих ей осложнений у собак крупных и гигантских пород, проживающих в условиях мегаполиса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

С целью выявления частоты встречаемости дилатационной кардиомиопатии и сопутствующих ей осложнений у собак крупных и гигантских пород был проведен сравнительный анализ базы данных ветеринарной клиники «LapinoVet» города Санкт-Петербург за период с 2022 по 2024 годы. Были изучены амбулаторные карты 100 собак с патологиями сердца, массой тела от 25,0 кг и более, без учета их породной и половой принадлежности, при возрастной выборке от полутора до 14 лет. По результатам проведенного анализа пациенты, в зависимости от вида кардиологической патологии, были разделены на группы, при этом число животных в последних легло в основу определения частоты их выявления.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

На основе проведенного анализа картотеки ветеринарной клиники за период с 2022 по 2024 годы была установлена частота встречаемости кардиологических патологий у собак крупных и гигантских пород в условиях мегаполиса (таблица 1). Так в указанный период на прием в клинику поступили животные с такими диагнозами как: дегенеративные изменения клапанного аппарата, дилатационная кардиомиопатия (ДКМП), нарушения проводимости и ритма, врожденные патологии (стеноз, дисплазия клапана, пороки сердца). При этом дилатационная кардиомиопатия по числу встречаемости занимает первое место – процент ее встречаемости в исследуемых случаях составил 42,0 %. Нарушения проводимости и сердечного ритма были зарегистрированы у 25,0 % собак, в частности были отмечены такие патологии, как желудочковые экстрасистолы (единичные и множественные), желудочковая тахикардия, фибрилляция предсердий и атриовентрикулярная блокада различной степени. У 11,0 % собак были выявлены дегенеративные заболевания клапанного аппарата, в то время как у 17,0 % изменения клапанов оказались врожденной патологией (стеноз, дисплазия). Наименьшее число (5,0 %) пришлось на врожденные пороки сердца (открытый артериальный проток, тетрада Фалло).

Исходя из вышеизложенного, следует, что на врожденные патологии из всех рассмотренных случаев кардиологических заболеваний у собак крупных и гигантских пород приходится 22,0 %, а на приобретенные 78,0 %, причем большинство из них представлено дилатационной кардиомиопатией (53,9 %).

При этом следует отметить, что дилатационная кардиомиопатия встречается как самостоятельное заболевание только в 54,8 % из случаев ее выявления, в то время в оставшихся 45,2 % она осложне-

на нарушениями проводимости и сердечного ритма. Из них 63,2 % приходится на осложнения, связанные с проводимостью, а в 36,8 % случаях на нарушения сердечного ритма. Вышеуказанные данные графически отражены на диаграмме 1.

Таблица 1 – Частота встречаемости кардиопатологий у собак

Кардиопатология	Частота встречаемости (%)
Дилатационная кардиомиопатия	42,0 %
Дегенеративные изменения клапанного аппарата	11,0 %
Нарушения проводимости и сердечного ритма	25,0 %
Врожденная патология клапанного аппарата	17,0 %
Врожденный порок сердца	5,0 %

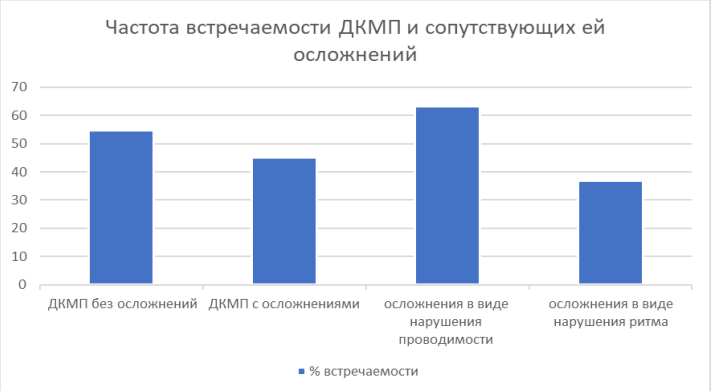


Диаграмма 1 – Частота встречаемости дилатационной кардиомиопатии (ДКМП) и сопутствующих ей осложнений – нарушения проводимости и ритма сердца.

Таблица 2 – Стадии гемодинамических изменений при дилатационной кардиомиопатии у собак

Стадия гемодинамических изменений	Количество животных
Стадия B1	8
Стадия B2	12
Стадия C	22

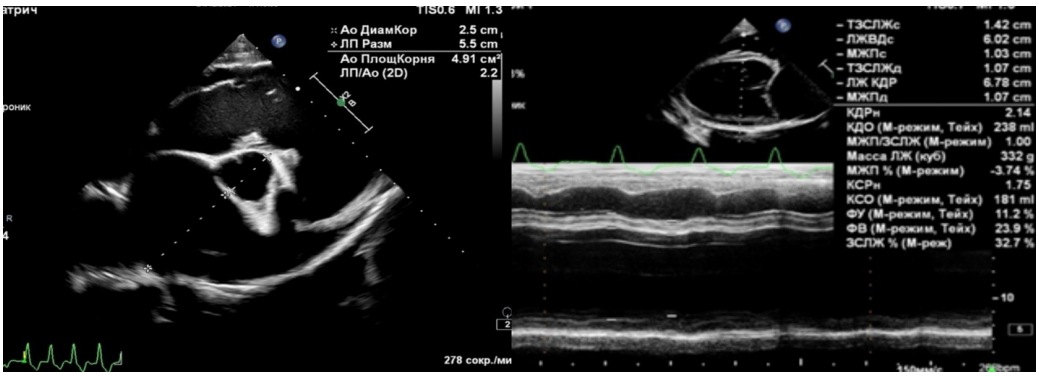


Рисунок 1 – Ультразвуковое исследование сердца с ЭКГ-модулем у пациента с дилатационной кардиомиопатий при гемодинамических изменениях на стадии С и фибрилляцией предсердий.

Помимо этого, следует отметить, что нарушения проводимости и ритма сердца как самостоятельные заболевания, несопровождаемые дилатационной кардиомиопатией были выявлены у 24,0 % собак. Из них 33,3 % случаев приходится на нарушения проводимости, а 66,7 % на нарушения ритма.

Также нами был проведен анализ стадийности гемодинамических изменений при дилатационной кардиомиопатии во всех исследуемых случаях на момент поступления пациента в клинику. Исходя из анализа данных, приведенных в таблице 2, можно отметить, что у 52,4 % из исследуемых собак с дилатационной кардиомиопатией наблюдались гемодинамические изменения стадии С, стадия В2 у 28,6 % и стадия В1 у 19,0 %.

При этом, нами была выявлена зависимость между стадией гемодинамических изменений и нарушениями проводимости и сердечного ритма. Так, при дилатационной кардиомиопатии со стадией гемодинамических изменений В1, только у 10,5 % отмечались оба вида патологий, при стадии В2 у 15,8 %, а при стадии С в 73,7 % случаях. Исходя из этого можно прийти к выводу, что частота встречаемости нарушений проводимости и сердечного ритма у собак с дилатационной кардиомиопатией возрастает пропорционально тяжести проявления гемодинамических изменений сердца.

Следует отметить, что у животных с осложненной дилатационной кардиомиопатией при гемодинамических изменениях на стадии С (73,7 % из всех случаев ее регистрации) при проведении ультразвукового исследования сердца были выявлены структурные изменения подобные изменениям, отраженным на рисунке 1.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Исходя из вышеизложенного можно прийти к выводу, что дилатационная кардиомиопатия является одной из самых часто регистрируемых патологий миокарда у собак в условиях мегаполиса. Стоит отметить, что она часто осложнена нарушениями проводимости и сердечного ритма. При этом большинство случаев нарушений проводимости регистрируется у собак при гемодинамических изменениях на стадии С.

INCIDENCE OF DILATED CARDIOMYOPATHY AND RELATED COMPLICATIONS IN DOGS

Prusakov A.V.* – Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Head of the Sinev Department of Internal Animal Diseases. Sineva A.V. (ORCID 0000-0001-5582-5155); **Pogodaeva K. A.**– Postgraduate student at the Sinev Department of Internal Animal Diseases (ORCID 0009-0008-4594-4271); **Yashin A.V.**– Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Professor of the Department of Internal Animal Diseases. Sineva A.V. (ORCID 0000-0002-3614-4730).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* *prusakovv-av@mail.ru*

ABSTRACT

Pathologies of the cardiovascular system in small domestic animals are registered quite often. This is especially true for dogs of large and giant breeds. Congenital malformations are much less common. For the most part, they have acquired pathologies related to structural changes in the myocardium – cardiomyopathy. At the same time, the question of the frequency of certain types of cardiac pathologies in dogs, in particular dilated cardiomyopathy and its concomitant complications, remains open. Based on literature data, cardiac pathologies of various origins are recorded in 32.4% of dogs. Most of these are acquired. Considering the above, the goal was set to identify the frequency of dilated cardiomyopathy and related complications in dogs of large and giant breeds living in a megalopolis. To achieve this goal, a comparative analysis of the database of the LapinoVet veterinary clinic in St. Petersburg for the period from 2022 to 2024 was carried out. For this purpose, 100 outpatient records of dogs with heart diseases, body weight from 25.0 kg or more, were selected, without taking into account their breed and gender,

with an age sample from one and a half to 14 years. According to the results of the conducted studies, it was found that the most frequently reported myocardial pathology in dogs of large and giant breeds living in a megalopolis is dilated cardiomyopathy. The latter is often complicated by conduction and cardiac arrhythmias. In this case, impaired conduction is most often associated with hemodynamic changes at stage C.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Коваленко, А. А. Дилатационная кардиомиопатия у собак / А. А. Коваленко, О. А. Столбова // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова. – 2020. – № 4 (61). – С. 58-64. – DOI 10.34655/bgsha.2020.61.4.009. – EDN NOHQRV.
2. Wilde A. A., van den Dtrg M. P. Ten years of genes in inherited arrhythmia syndromes: an example of what we have learntd from patients, electrocardiograms, and computers // J. Electrocardiol., 2005, vol. 38, № 4. P. 145–149.
3. Ковалев, С. П. Результаты электрокардиографического исследования у здоровых собак / С. П. Ковалев, В. А. Трушкин, П. С. Киселенко // Актуальные вопросы ветеринарной науки : Материалы Международной научно-практической конференции, Ульяновск, 09–11 июня 2015 года. – Ульяновск: Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия им. П.А. Столыпина, 2015. – С. 163-166. – EDN YTVAEU.
4. Методы диагностики гипертрофической кардиомиопатии у кошек / В. А. Трушкин, А. А. Никитина, С. П. Ковалев [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2021. – № 4. – С. 86-89. – DOI 10.52419/issn2072-6023.2021.4.86. – EDN QOQKSX.
5. Погодаева К.А., Прусаков А.В. Сравнительная оценка эффективности схем лечения дилатационной кардиомиопатии у собак. Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. 2025;(2):68-71. https://doi.org/10.52419/issn2782-6252.2025.2.68.
6. Анников, В. В. Динамика биохимических изменений у собак, больных эндокардиозом АВ-клапанов на доклинической стадии при терапии ингибитором АПФ и антагонистом альдостерона / В. В. Анников, А. С. Михалкин, Л. В. Анникова // Международный вестник ветеринарии. – 2019. – №1. – С. 133-139.

REFERENCES

1. Kovalenko, A. A. Dilated cardiomyopathy in dogs / A. A. Kovalenko, O. A. Stolbova // Bulletin of the Buryat State Agricultural Academy named after V.R. Filippov. - 2020. - No. 4 (61). - P. 58-64. - DOI 10.34655/bgsha.2020.61.4.009. - EDN NOHQRV.
2. Wilde A. A., van den Dtrg M. P. Ten years of genes in inherited arrhythmia syndromes: an example of what we have learned from patients, electrocardiograms, and computers // J. Electrocardiol., 2005, vol. 38, No. 4. P. 145–149.
3. Kovalev, S. P. Results of electrocardiographic study in healthy dogs / S. P. Kovalev, V. A. Trushkin, P. S. Kiselenko // Current issues of veterinary science: Proceedings of the International scientific and practical conference, Ulyanovsk, June 9-11, 2015. - Ulyanovsk: Ulyanovsk State Agricultural Academy named after P.A. Stolypin, 2015. - Pp. 163-166. - EDN YTVAEU.
4. Methods for diagnosing hypertrophic cardiomyopathy in cats / V. A. Trushkin, A. A. Nikitina, S. P. Kovalev [et al.] // Issues of regulatory framework in veterinary medicine. - 2021. - No. 4. - Pp. 86-89. – DOI 10.52419/issn2072-6023.2021.4.86. – EDN QOQKSX.
5. Pogodaeva K.A., Prusakov A.V. Comparative evaluation of the effectiveness of treatment regimens for dilated cardiomyopathy in dogs. Normative-legal regulation in veterinary medicine. 2025;(2):68-71. https://doi.org/10.52419/issn2782-6252.2025.2.68.
6. Annikov, V.V. Dynamics of biochemical changes in dogs with preclinical AV valve endocardiosis during therapy with an ACE inhibitor and an aldosterone antagonist / V.V. Annikov, A.S. Mikhalkin, L.V. Annikova // International Veterinary Bulletin. – 2019. – No. 1. – pp. 133-139.

УДК: 591.4
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2025.4.642

ПОКАЗАНИЯ К ПРОВЕДЕНИЮ БИОМИКРОСКОПИИ ПТИЦАМ

Соломахина Л.А. * – канд. ветеринар. наук, гл. врач (ORCID 0000-0003-2238-2727)

Воронежский ветеринарный госпиталь № 1

***** *barashek.l@yandex.ru*

Ключевые слова: птица, морфология, глазное яблоко, биомикроскопия, ветеринарная офтальмология.
Key words: bird, morphology, eyeball, biomicroscopy, veterinary ophthalmology.

Поступила: 10.08.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

Биомикроскопия глаза – это бесконтактный метод детального осмотра глазных сред и тканей глаза при помощи специального аппарата – щелевой лампы. Щелевая лампа комбинирует в себе интенсивный источник света (осветительная система) и микроскоп с увеличением в среднем х 10, х 16 в зависимости от оборудования. Биомикроскопия позволяет произвести детальный осмотр конъюнктивы, век, третьего века, роговицы, радужки, передней камеры глаза, хрусталика и передней части стекловидного тела птицы. Процедура биомикроскопии безболезненна и позволяет выявлять заболевания птиц на ранних стадиях. Для осмотра конъюнктивы, век, третьего века, роговицы, радужки специальной подготовки не требуется. Для осмотра передней камеры глаза желательно расширить зрачок после предварительного осмотра птицы на узком зрачке, так как на фоне мидриаза врач может легче увидеть даже незначительное помутнение ВГЖ (внутриглазной жидкости). Для осмотра хрусталика и передней части стекловидного тела требуется обязательное расширение зрачка птице, так как на узком или даже на умеренно расширенном зрачке невозможно тщательно осмотреть эти структуры. Биомикроскопию можно проводить как на широком, так и на узком световом пучке. Первый вариант представляет собой детальный осмотр глазных структур под микроскопом под нужным увеличением и с прекрасным освещением. Второй вариант представляет собой «срез» глаза, который представлен в виде трех лучей, каждый из которых обозначает определенные структуры.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Биомикроскопия глаза – это бесконтактный метод детального осмотра глазных сред и тканей глаза при помощи специального аппарата – щелевой лампы (биомикроскопа). Данный прибор комбинирует в себе интенсивный источник света (осветительная система) и микроскоп с увеличением в среднем х 10, х 16 в зависимости от оборудования. Щелевые лампы бывают монокулярные и бинокулярные; портативные и стационарные. Безусловно, бинокулярные биомикроскопы имеют гораздо больше преимуществ по сравнению с монокулярными приборами. Как правило, они имеют более качественную оптику и источник света, большее увеличение по сравнению с монокулярными моделями. То есть, качество исследования повышается, а, следовательно, повышается и качество диагностики. Кроме того, к бинокулярным щелевым лампам можно присоединить специальную видео систему для возможности проведения видео и фотосъемки [2, 3, 6-10].

Это дает возможность не просто произвести детальный осмотр глаза птицы, но и документировать полученные данные для научных целей, оценки динамики пациента, прикрепления в картотеку пациента, для возможности показать владельцу птицы на конкретном фото или видео детали, на которых врач хочет сделать акцент [1, 4].

Для ветеринарии оптимальны портативные щелевые лампы, которые позволяют произвести осмотр птицы, не привязываясь к месту проведения исследования. Это особенно удобно для осмотра диких и зоопарковых птиц. Стационарные приборы наиболее часто используются в медицине человека, птицу же не всегда возможно без наркоза зафиксировать в нужной позиции у стационарного прибора [5, 11-16].

Целью исследования - установить основные показания к проведению биомикроскопии глаз птиц, а также определить в каких случаях использовать метод осмотра на широком световом пучке, а в каких случаях метод оптического среза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Процедура биомикроскопии безболезненна и позволяет выявлять заболевания органов зрительного анализатора птиц на ранних стадиях. Она позволяет произвести детальный осмотр конъюнктивы, век, роговицы, радужки, передней камеры глаза, хрусталика и передней части стекловидного тела птицы [2, 5].

Материалом для исследования послужили птицы различных отрядов - ястребообразных (ястреб тетеревятник, ястреб тетеревятник, красный коршун, черный коршун, курганник), соколообразных (сокол сапсан, сокол балабан, чеглок, пустельга, кречет), журавлеобразных (дрофа) и совообразных (сова ушастая, неясыть, сплюшка, сова болотная, домовый сыч)**.** Всего исследовано 20 половозрелых птиц - по 5 каждого вида. Птицы поступали на прием из центра помощи диким животным «Сердце леса». Некоторые исследования проведены в «Центре воспроизводства редких видов животных». В качестве прибора использовалась бинокулярная щелевая лампа Kowa SL-15 (portable slit lamp) фирмы Eickemeyer с возможностью проведения видео- и фотосъемки для фиксации полученных материалов.

Биомикроскопию проводили по методике Шульпиной, Н. Б. [5] с использованием метода диффузной прямой иллюминации (на широком световом пучке) и метода фокальной прямой иллюминации (оптический срез).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В России разработка методов биомикоскопии глаз у дикой птицы до наших исследований не проводилась. В ходе наших многочисленных исследований мы пришли к выводу, что биомикроскопия глаз птиц является незаменимым методом исследования в руках врача-офтальмолога и она должна рутинно проводиться при любом офтальмологическом осмотре как при наличии у птицы тех или иных клинических признаков офтальмологических патологий, с профилактической целью, так и для раннего выявления

скрытых патологий.

Наши многочисленные исследования показали, что технически метод диффузной прямой иллюминации прост в исполнении. Для проведения исследования данным способом необходимо установить на приборе (бинокулярная щелевая лампа Kowa SL-15) увеличение х 10, выбрать широкий световой пучок в виде круга (можно также выбрать яркость освещения; для комфорта пациента можно выбрать интенсивность света ¼ или 1/16 на приборе) и производим детальный осмотр глаза от переднего к заднему сегменту. Диффузная прямая иллюминация может быть выполнена как на широком, так и на узком зрачке. Обычно первоначально исследование необходимо проводить на узком зрачке, а далее для того, чтобы не упустить детали зрачок расширяется и глаз осматривается данным методом еще раз. Это позволяет под увеличением оценить основные глазные структуры начиная от наружных структур (веки, конъюнктива, роговица, третье веко, слезные точки) к внутренним (радужка, передняя камера глаза, хрусталик).

Метод фокальной прямой иллюминации (оптический срез) является более сложным. Его рекомендуем выполнять на расширенном зрачке. Техника исследования заключается в сужении светового пучка до узкой щели с выставлением на приборе 0,1 и медленное сканирование глаза слева направо или справа налево. Интенсивность света также можно менять на приборе. При условии, что зрачок хорошо расширен первый луч соответствует роговице, второй луч соответствует передней капсуле хрусталика (сверху и снизу обычно захватывает радужку), третий луч соответствует задней капсуле хрусталика.

Для осмотра конъюнктивы, верхнего, нижнего и третьего век, роговицы и радужки специальной подготовки не требуется. Для осмотра передней камеры глаза желательно расширить зрачок после предварительного осмотра птицы на узком зрачке, так как на фоне мидриаза врач может легче увидеть даже незначительное помутнение внутриглазной жидкости (ВГЖ). Для расширения зрачка рекомендуем использовать рокурония бромид или верокурония бромид в дозе по 1 капле в каждый глаз однократно. После закапывания миорелаксанта расширение зрачков происходит через 15-20 минут. Биомикроскопию рекомендуем производить вначале на широком световом пучке начиная с век, конъюнктивы, третьего века, осмотра слезных точек, роговицы, радужки, передней камеры глаза и передней капсулы хрусталика с дальнейшим исследованием «в срезе» с акцентом на детальное изучение структуры хрусталика, передней камеры глаза и передней части стекловидного тела.

Для осмотра хрусталика и передней части стекловидного тела требуется обязательное расширение зрачка птице, так как на узком или даже на умеренно расширенном зрачке невозможно тщательно осмотреть эти структуры. Исследование рекомендуем проводить в темноте. Особенно это касается выявления помутнений внутриглазной жидкости, в хрусталике и в стекловидном теле.

В результате проведенных многочисленных исследований, мы рекомендуем проводить биомикроскопию глазного яблока у птицы как на широком, так и на узком световом пучке. Констатируем, что осмотр глаза птицы на широком световом пучке позволяет осуществить детальный осмотр структур глазного яблока под микроскопом под нужным увеличением и с прекрасным освещением, а исследование на узком световом пучке представляет собой «срез» глазного яблока. По нашему мнению, осуществлять его необходимо под контролем трех лучей, каждый из которых позволяет анализировать состояние определенных структур согласно.

Первоначально необходимо произвести биомикроскопию на широком световом пучке (диффузная прямая иллюминация). Это позволяет под увеличением оценить основные глазные структуры начиная от наружных структур (веки, конъюнктива, роговица, третье веко, слезные

точки) к внутренним (радужка, передняя камера глаза, хрусталик) (Рисунок 1). Далее на расширенном зрачке необходимо провести исследование «в срезе» (фокальная прямая иллюминация или оптический срез). Как показали наши исследования это позволяет не упустить офтальмологические патологии, включая начальный передний увеит, катаракту и пролапс стекловидного тела в переднюю камеру глаза. Исследование «в срезе» так же позволяется понять локализацию поражения. По нашим данным при исследовании хрусталика на широком световом пучке не всегда возможно понять локализацию катаракты. Используя рекомендуемую методику «среза», можно с максимальной точностью определить, где располагается то или иное поражение. Метод оптического среза незаменим для выявления помутнения внутриглазной жидкости (ВГЖ), что особенно важно на ранних стадиях переднего увеита, для оценки состояния передней части стекловидного тела и для определения глубины поражения роговицы.

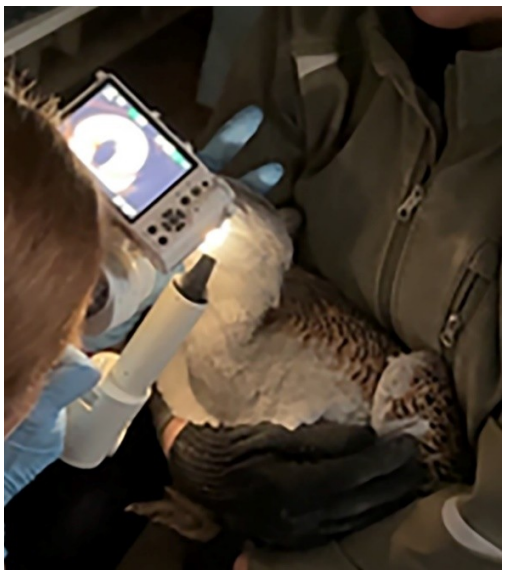


Рисунок 1 – Биомикроскопия глаза дрофы на широком световом пучке (фото Соломахиной, Л. А.).

Биомикроскопия обязательна к проведению в случае снижения или потери зрения у птицы, болезненности или зуда в области глаза, покраснение конъюнктивы и век, при светобоязни, при слезотечении, при помутнениях глазных сред и т.д. Она позволяет: провести визуальный осмотр век, конъюнктивы; исследовать структуру роговицы, её толщину, выявить характер и локализацию патологических изменений в ней; исследовать состояние влаги передней камеры глаза (пространства между роговицей и радужкой) (Рисунок 2, 3), определить глубину передней камеры; позволяет провести детальный осмотр радужной оболочки; исследовать строение хрусталика, определить наличие и расположение помутнений в его веществе; исследовать переднюю половину массы стекловидного тела и выявить помутнения, кровь или различные отложения в нём. Таким образом, проведя многочисленные исследования, мы пришли к заключению, что проведение подобных исследований незаменимо при диагностике конъюнктивитов; блефаритов; кератитов; передних увеитов; различных новообразований со стороны конъюнктивы, век, радужки и цилиарного тела; увеальных кист в передней камере глаза; пролапса стекловидного тела в передней камере глаза (по нашим данным это частая патология у птиц); патологий хрусталика, в том числе катаракт и прочих сосудистых аномалий развития хрусталика и стекловидного тела; патологий передней части стекловидного тела.

Кроме того, использование бинокулярной щелевой лампы Kowa SL-15 фирмы Eickemeyer для исследования состояния структур зрительного анализатора и вспомогательных органов глаза у птицы является важным методом при диагностировании различных травматических повреждениях как тупых, так и колотых (проникающих и непроникающих; с повреждением и без повреждения хрусталика). Нами установлено, что при наличии отека роговицы далеко не всегда возможно оценить внутренние структуры глаза при помощи биомикроскопии. В таких

случаях мы рекомендуем делать УЗИ глаза. Подобный алгоритм действия мы рекомендуем в случаях, если передняя камера глаза заполнена большим количеством воспалительного содержимого или крови и при этом затруднена оценка состояния радужки, а тем более хрусталика и стекловидного тела даже на расширенном зрачке.

Рисунок 2 – Биомикроскопия глаза дрофы на узком световом пучке (фото Соломахиной, Л. А.).

Рисунок 3 – Биомикроскопия глаза совы на узком световом пучке (фото Соломахиной Л. А.).

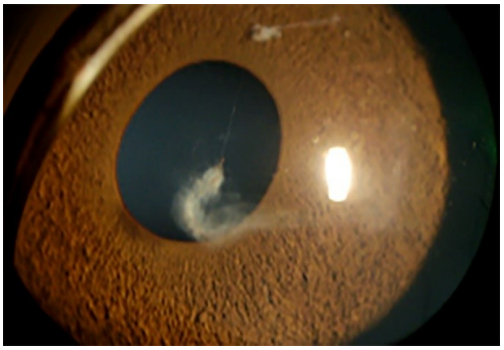


Рисунок 4 – Биомикроскопия глаза совы на широком световом пучке. Фибрин в передней камере глаза (фото Соломахиной, Л. А.).

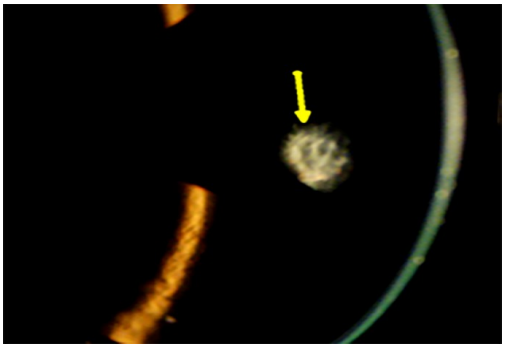


Рисунок 5 – Биомикроскопия глаза совы на узком световом пучке. Фибрин в передней камере глаза (фото Соломахиной, Л. А.).

Проведя исследования у разных видов диких птиц, мы можем заключить, что биомикроскопию глазного яблока необходимо использовать и при диагностике помутнения внутриглазной жидкости (Рисунок 4, 5). По- нашему убеждению это исследование особенно ценно при начальных увеитах, которые могут быть неправильно диагностированы как конъюнктивиты. Именно биомикроскопия на

расширенном зрачке позволяет максимально тщательно просмотреть переднюю камеру глаза и увидеть даже малейшее помутнение внутриглазной жидкости, которое проявляется в эффекте Тиндаля.

Использование бинокулярной щелевой лампы Kowa SL-15 позволяет установить феномен Тиндаля: видимое рассеяние света (в виде «тумана» или «конуса») при прохождении светового пучка через внутриглазную жидкость, в которой присутствуют взвешенные частицы. Этот симптом указывает на повышенное содержание твердых частиц в передней камере глаза, что может быть признаком увеита (Рисунок 6, 7).

Биомикроскопия у птицы с использованием бинокулярной щелевой лампы Kowa SL-15 является экспертным методом диагностики при выявлении локализации катарактальных поражений в зависимости от расположения в той или иной части хрусталика. В результате проведенных исследований мы разделили их на кортикальные (передние/задние), капсулярные, субкапсулярные, ядерные, экваториальные типы.

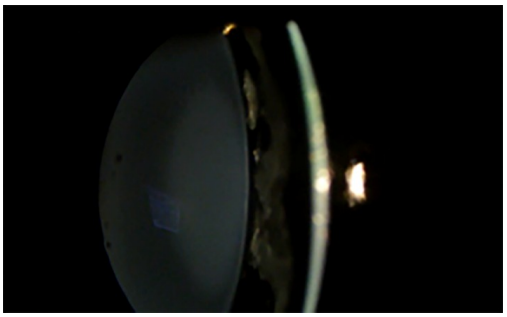


Рисунок 6 – Биомикроскопия глаза птицы на узком световом пучке. Помутнение внутриглазной жидкости (фото Соломахиной, Л. А.).

Рисунок 7 – Биомикроскопия глаза совы на узком световом пучке. Пролапс стекловидного тела в переднюю камеру глаза (фото - Соломахиной, Л. А.).

При УЗИ исследовании глазного яблока далеко не всегда видны начальные катарактальные изменения в хрусталике. При этом во время проведения нами биомикроскопии глазного яблока с использованием щелевой лампы на расширенном зрачке нами были установлены малейшие точечные поражения хрусталика, что подтверждает высокую точность данного метода исследования.

В проведенных исследованиях биомикроскопия глазного яблока позволила выявить тип патологических изменений в передней части стекловидного тела. Если УЗИ исследование стекловидного тела позволило нам осмотреть весь его объем, то биомикроскопия позволяет оценить только переднюю его часть. Однако на УЗИ все изменения в стекловидном теле выглядели как гиперэхогенные структуры. При этом биомикроскопия дала нам возможность детально определить характер изменений: скопление в стекловидном теле эритроцитов, или же белых кристаллов как при звездчатом гиалозе.

Проведя подобные исследования, мы пришли к твердому убеждению, что биомикроскопия глазного яблока и вспомогательных органов зрительного анализатора у дикой птицы с использованием бинокулярной щелевой лампы Kowa SL-15 исключительно важна для постановки диагноза, для предоперационного и послеоперационного наблюдения за состоянием органов зрительного анализатора, включая контроль мониторинг процесса заживления, особенно при кератопластике и факоэмульсификация катаракты.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Биомикроскопия является важной

диагностической процедурой для птиц, которая позволяет ветеринарному врачу-офтальмологу поставить точный диагноз. Знание показаний к проведению биомикроскопии, подготовки к процедуре и техник биомикроскопии необходимо для качественной работы врача-офтальмолога. Нами определены основные показания к проведению биомикроскопии глаз птиц и разработан алгоритм её проведения. Биомикроскопия на широком световом пучке и «в срезе» должна производиться при каждом офтальмологическом осмотре птиц для того, чтобы не упустить важные офтальмологические патологии, особенно начальный передний увеит, катаракту и пролапс стекловидного тела в переднюю камеру глаза, для диагностики которых метод оптического среза является незаменимым.

INDICATIONS FOR BIOMICROSCOPY IN BIRDS

Solomakhina L.A. * - Candidate of Veterinary Sciences

Voronezh Veterinary Hospital №. 1, ophthalmologist (ORCID 0000-0003-2238-2727).

***** *barashek.l@yandex.ru*

ABSTRACT

Eye biomicroscopy is a non-contact method of detailed examination of the eye media and tissues using a special device called a slit lamp. A slit lamp combines an intense light source (illumination system) and a microscope with an average magnification of x10, x16, depending on the equipment. Biomicroscopy allows for a detailed examination of the conjunctiva, eyelids, third eyelid, cornea, iris, anterior chamber of the eye, lens, and anterior part of the vitreous body of the bird. The biomicroscopy procedure is painless and makes it possible to detect bird diseases at an early stage. No special training is required to examine the conjunctiva, eyelids, third eyelid, cornea, or iris. To examine the anterior chamber of the eye, it is advisable to dilate the pupil after a preliminary examination of the bird on a narrow pupil, since against the background of mydriasis, the doctor can more easily see even a slight turbidity of the IOP (intraocular fluid). To examine the lens and the anterior part of the vitreous body, it is necessary to dilate the bird's pupil, as it is impossible to thoroughly examine these structures with a narrow or even moderately dilated pupil. Biomicroscopy can be performed using both a wide and a narrow light beam. The first option involves a detailed examination of the eye structures under a microscope at the desired magnification and with excellent lighting. The second option is a "slice" of the eye, which is represented by three rays, each representing specific structures.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Егоров, Е. А. Офтальмологические проявления общих заболеваний / Е. А. Егоров, Т. В. Ставицкая, Е. С. Тутаев // М.: «ГЭОТАР–Медиа». – 2006. – 590 с.
2. Ковалевский, Е. И. Офтальмология / Е. И. Ковалевский // М.: Медицина. –1995. – С. 235–241.
3. Соломахина Л. А. Интраоперационное введение «Актилизе» при факоэмульсификации катаракты для профилактики синехий в ветеринарной офтальмологии / Л.А. Соломахина // Иппология и ветеринария. – Санкт–Петербург, 2023. – № 2 (48). – С.167–173.
4. Стекольников, А. А. Ветеринарная офтальмология: учебник / А. А. Стекольников, Л. Ф. Сотникова // СПб: Проспект Науки, 2017. – 288 с.
5. Шульпина, Н. Б. Биомикроскопия глаза: М., 2021. – 24 с.
6. Хаппе, В. Офтальмология / В. Хаппе // М.: «МЕДпресс–информ». –2004. – 352 с.
7. Williams, D. L. Ophthalmology of exotic pets. Willey-Blackwell. 2012.
8. Martin C. L. Ophthalmic Disease in Veterinary medicine. Manson. London, 2010.
9. Ott, M. Visual accommodation in vertebrates: mechanisms, physiological response and stimuli. J Comp Physiol A 2006;192: 97 –111.
10. Sivak, J. G. Avian mechanisms for vision in air and water. Trends Neurosci 1980;12: 314–317.

11. Pettigrew, J. D, Wallman, J, Wildsoet, C. F. Saccadic oscillations facilitate ocular perfusion from the avian pecten. Nature 1990; 343:362–363.
12. Petersen, J. S., Crispin, S. BSAVA Manual of Small Animal Ophthalmology. BSAVA.Spain, 2002.
13. Slatter's Fundamentals of Veterinary ophthalmology. 4th ed. Saunders Elsevier. China, 2008.
14. Veterinary Ocular Pathology a comparative review / R. R. Dubielzig, K. Ketring, G. J. McLellan, D. M. Albert. Saunders Elsevier. China, 2010.
15. Veterinary ophthalmology / Edited by K. N. Gelatt, B. C. Gilger, T. J. Kern. 5th ed. Willey-Blackwell. 2013.
16. Veterinary ophthalmology / edited by Kirk N. Gelatt, Brian C. Gilger, Thomas J. Kern. – 6th ed.

REFERENCES

1. Egorov, E. A. Oftal`mologicheskie proyavleniya obshhix zabolevanij / E. A. Egorov, T. V. Staviczkaya, E. S. Tutaev // M.: «GE`OTAR–Media». – 2006. – 590 s.
2. Kovalevskij, E. I. Oftal`mologiya / E. I. Kovalevskij // M.: Medicina. –1995. – S. 235–241.
3. Solomaxina L. A. Intraoperacionnoe vvedenie «Aktilize» pri fakoe`mul`sifikacii katarakty` dlya profilaktiki sinexij v veterinarnoj oftal`mologii / L.A. Solomaxina // Ippologiya i veterinariya. – Sankt–Peterburg, 2023. – № 2 (48). – S.167–173.
4. Stekol`nikov, A. A. Veterinarnaya oftal`mologiya: uchebnik / A. A. Stekol`nikov, L. F. Sotnikova // SPb: Prospekt Nauki, 2017. – 288 s.
5. Shul`pina, N. B. Biomikroskopiya glaza [Tekst] : M., 2021. – 24 s.
6. Xappe, V. Oftal`mologiya / V. Xappe // M.: «MEDpress–inform». –2004. – 352 s.
7. Williams, D. L. Ophthalmology of exotic pets. Willey-Blackwell. 2012.
8. Martin C. L. Ophthalmic Disease in Veterinary medicine. Manson. London, 2010.
9. Ott, M. Visual accommodation in vertebrates: mechanisms, physiological response and stimuli. J Comp Physiol A 2006;192: 97 –111.
10. Sivak, J. G. Avian mechanisms for vision in air and water. Trends Neurosci 1980;12: 314–317.
11. Pettigrew, J. D, Wallman, J, Wildsoet, C. F. Saccadic oscillations facilitate ocular perfusion from the avian pecten. Nature 1990; 343:362–363.
12. Petersen, J. S., Crispin, S. BSAVA Manual of Small Animal Ophthalmology. BSAVA.Spain, 2002.
13. Slatter's Fundamentals of Veterinary ophthalmology. 4th ed. Saunders Elsevier. China, 2008.
14. Veterinary Ocular Pathology a comparative review / R. R. Dubielzig, K. Ketring, G. J. McLellan, D. M. Albert. Saunders Elsevier. China, 2010.
15. Veterinary ophthalmology / Edited by K. N. Gelatt, B. C. Gilger, T. J. Kern. 5th ed. Willey-Blackwell. 2013.
16. Veterinary ophthalmology / edited by Kirk N. Gelatt, Brian C. Gilger, Thomas J. Kern. – 6th ed.

УДК: 615.27:616-006-085:619
DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.650

ПОИСКОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ИНГИБИТОРОВ Р-ГЛИКОПРОТЕИНА ПРИ ТЕРАПИИ У ЖИВОТНЫХ С ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ ПАТОЛОГИЯМИ

Назарова А. В.[*] – канд. ветеринар. наук, доцент каф. общей, частной и оперативной хирургии (ORCID 0000-0003-4726-6204); **Семенов Б. С.** – д-р ветеринар. наук, проф. каф. общей, частной и оперативной хирургии (ORCID 0000-0003-0149-9360); **Кузнецова Т. Ш.** – канд. биол. наук, доц. генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID: 0000-0002-8981-0696)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

[*] anna.v.nazarova@mail.ru

Ключевые слова: *ABC-транспортёры, множественная лекарственная устойчивость, химиотерапия, таргетная терапия, ABCB1; MDR1, Р-гликопротеин, кверцетин, собаки, кошки.*

Key words: *ABC-transporters, multidrug resistance, chemoresistance, target therapy, ABCB1, MDR1, P-glycoprotein, quercetin, dog, cat.*

Поступила: 15.08.2025 **Принята к публикации: 05.12.2025**
Опубликована онлайн: 26.12.2025

РЕФЕРАТ

АВС-транспортёры — группа белков, функцией которых является транспорт питательных веществ внутрь клетки и выделение эндогенных и экзогенных молекул из клетки. Протоонкоген ABCB1(MDR1) кодирует мембран ассоциированный белок под названием Р-гликопротеин. Р-гликопротеин отвечает за выделение из клетки большого количества ксенобиотиков и регулирует их всасывание в кишечнике. Ген ABCB1 и кодируемый им Р-гликопротеин отвечает также за формирование мультилекарственной устойчивости (МЛУ). Дисфункция Р-гликопротеина может возникнуть как вследствие неопластического процесса, так и в результате взаимодействия лекарств у любой собаки или кошки. Это делает актуальным исследование механизмов формирования МЛУ у животных, проходящих противораковую терапию, а также поиск эффективных способов профилактики формирования МЛУ и её снижения. Одним из вариантов, позволяющих повысить эффективность противоопухолевой терапии и улучшить выживаемость животных с онкологическими заболеваниями, в том числе при рецидивах, метастазах и нерезектабельных опухолях, является включение в протоколы лечения ингибиторов АВС-транспортёров. Одним из веществ, которые рассматриваются в качестве ингибиторов АБС-транспортёров, является кверцетин — природное биохимическое вещество группы флавоноидов. В период с 2024 по 2025 год с целью оценить целесообразность дальнейшего изучения применения дигидрокверцетина в качестве ингибитора ABCB1 (MDR1) белка-транспортёра у животных, проходящих противораковую терапию, нами было про-

ведено поисковое исследование. Животным, включённым в исследование, проводилась терапия препаратами тоцерениб, иматиниб, сорафениб, лапатиниб и траметиниб. В качестве адъюванта применялось биологически активное вещество (БАВ) дигидрокверцетин в дозе 2–10 мг/кг/24 часа перорально. Результаты нашего поискового исследования подтверждают необходимость проведения клинических исследований применения дигидрокверцетина в качестве ингибитора ABCB1 (MDR1) белка-транспортёра у животных, проходящих противораковую терапию.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

ABC-транспортёры (*ATP binding cassette (ABC) transporters* — АТФ-зависимые транспортеры) — группа белков, функцией которых является транспорт питательных веществ внутрь клетки и выделение (экскреция) эндогенных и экзогенных молекул из клетки. Для транспортировки субстратов ABC-транспортёры используют энергию АТФ. ABC транспортёры подразделяются на полные и половинные. Полный ABC-транспортёр состоит из двух трансмембранных доменов (TMD), которые формируют трансмембранную пору и двух нуклеотид-связывающих доменов (NBD). Половинные ABC-транспортёры состоят из одного TMD и одного NBD [1]

При изучении ABC-транспортёров была выявлена их экспрессия в мембранах Т-лимфоцитов, благодаря чему воздействие на них может открыть новые перспективные направления в терапии аутоиммунных заболеваний и повышении иммунитета к инфекциям и раку. В исследовании C. Thurm [2] было выявлено, что ABC-транспортёры регулируют развитие и функцию различных популяций Т-клеток, таких как тимоциты, натуральные киллеры (NK-клетки), Т-киллеры (CD8 + Т-клетки, цитотоксические Т-лимфоциты), Т-хелперы (CD4+ Т-клетки, CD4+ клетки или CD4-положительные лимфоциты), в т.ч. регуляторные Т-клетки (Treg, Т-регуляторные клетки, Т-супрессоры).

В настоящее время выделено семь подсемейств белков-транспортёров: ABC1, MDR/TAP, MRP, ALD, OABP, GCN20 и White, внутри которых определено 48 транспортёров. Подсемействам белков соответствуют семь подсемейств генов ABCA–ABCG. На данный момент наиболее изученным из генов, кодирующих ABC-транспортёры, является протоонкоген ABCB1. Он был впервые выделен в 1976 году из яичников китайского хомяка и идентифицирован. Протоонкоген ABCB1 кодирует мембран ассоциированный белок под названием Р-гликопротеин *(P-glycoprotein, P-gp)*. В 1986 году было подтверждено, что ген ABCB1 отвечает также за формирование мультилекарственной устойчивости (МЛУ), из-за чего этот ген так же называют геном MDR1 *(multidrug-resistant)*.

Р-гликопротеин отвечает за выделение из клетки большого количества ксенобиотиков и регулирует их всасывание в кишечнике. Наибольшее распространение *P-gp* отмечено в защитных тканях организма и выделительных органах, в том числе на апикальной поверхности эндотелиоцитов гематоэнцефалического барьера (ГЭБ).

Влияя на абсорбцию лекарственных препаратов в кишечнике, *P-gp* может ограничивать биодоступность некоторых препаратов при пероральном приёме. Поскольку уровень препарата в плазме зависит как от метаболизирующих ферментов, так и от транспортных белков, активность Р-гликопротеина влияет не только на биодоступность, но также на распределение препаратов. Поэтому при назначении терапии надо учитывать, является ли препарат субстратом Р-гликопротеина. Так, например, используемый в ветеринарной медицине амитриптилин является субстратом *P-gp*, а флуоксетин и миртазапин, которые так же применяются для лечения животных, не являются субстратами *P-gp*. [3]. Также при подборе таргетных препаратов для лечения пациентов с метастазами в мозг необходимо учитывать не только наличие активирующих мутаций в раковых клетках, но также и взаимодействие используемого препарата с транс-

портными белками [4].

Именно с ролью *P-gp* в ГЭБ связано изучение гена ABCB1 (MDR1) в ветеринарной медицине. В 2001 году была впервые обнаружена чувствительность породистых колли к макроциклическим лактонам. Далее была выявлена и описана функциональная мутация, которая приводит к экспрессии менее функциональной формы *P-gp* (она была названа ABCB1-1Δ) [5, 6]. Несмотря на то, что чувствительность пастушьих пород собак к ивермектину была выявлена более 24 лет назад, исследования наличия мутации ABCB1-1Δ проводятся до настоящего времени. В последние годы было выявлено, что Р-гликопротеин транспортирует гораздо больше лекарств, чем просто макроциклические лактоны. Транспорт лекарств, опосредованный Р-гликопротеином, присутствует в большем количестве мест, чем только ГЭБ.

Также функциональность Р-гликопротеина существенно влияет на метаболизм и выведение кортизола, косвенно участвуя также в регуляции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы у собак [7].

Установлено, что у некоторых кошек есть генетический вариант MDR1, который приводит к дефициту Р-гликопротеина. Кроме того, дисфункция Р-гликопротеина может возникнуть в результате взаимодействия лекарств у любой собаки или кошки [8].

Кроме влияния на абсорбцию и распределение лекарственных средств, АВС-транспортёры влияют также на онкогенез на всех его этапах. Выявлен их вклад в инициацию, прогрессию, инвазию и метастазирование опухолей [9]. Уровень *P-gp* повышается в клетках рака яичников, молочной железы, лёгких, множественной миеломы и остеосаркомы [10, 11]. Выявлена повышенная экспрессия Р-гликопротеина при раке предстательной железы у собак [12].

АВС-транспортёры непосредственно влияют на развитие фенотипа множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) как у людей, так и у животных. Сверхэкспрессия ABCB1 связана с развитием устойчивости разных видов рака к химиотерапии и активируется при лечении доксорубицином, цисплатином и паклитакселом. [13, 14]

Последнее открытие возвращает нас к необходимости исследовать механизмы формирования МЛУ у животных, проходящих противораковую терапию, а также искать эффективные способы профилактики формирования МЛУ и/или её снижения. Включение в протоколы лечения ингибиторов (реверсоров) АВС-транспортёров позволяет повысить эффективность противоопухолевой терапии и улучшить выживаемость животных с раком.

Исследованы несколько механизмов ингибирования АВС-транспортёров: блокировка сайта связывания АТФ, нарушение гидролиза АТФ, блокировка индукции сигнальных путей, регуляция экспрессии белка путём блокировки факторов транскрипции. В настоящее время разработаны четыре поколения ингибиторов АВС-транспортеров. Однако несмотря на то, что их применение приводило к повышению чувствительности опухолевых клеток [15], препараты первых трёх поколений показали значительную токсичность и/или не показали значимой клинической пользы при их применении [16].

При поиске ингибиторов 4-го поколения были исследованы препараты натурального происхождения, так как они обладают низкой токсичностью и хорошей переносимостью. В качестве ингибитора АВС-транспортёров исследуются куркумин (является полифенольным пигментом из корневища *Curcuma longa*), ресвератрол (является полифенольным природным фитоалексином, производным транс-стильбена), нобилетин (является флавоноидом, выделяемым из кожуры цитрусовых), икаритин (является биологически активным компонентом, получаемым из травы горянки — *Epimedium*, horny goat weed), 5,7-диметоксифлавон (5,7-ДМФ) (природный флавоноид, получаемый из экстракта *Kaempferia parviflora*

— чёрного имбиря).

В исследовании I.S.T. Vicente [17] авторы определяли влияние куркумина и ресвератрола в качестве адъювантов при молекулярно-ориентированной терапии остеосаркомы собак с помощью мультикиназного ингибитора сорафениба.

В исследованиях S. Sapino [18] также рассматривалась проблема стандартной терапии остеосаркомы собак, возможности которой ограничиваются МЛУ. Для решения этой проблемы были изучены системы доставки лекарственных средств и модуляторы *P-gp*. Был разработан инновационный тип наночастиц с липидным ядром и кальций-фосфатной оболочкой (CaP-NPs), в которые был помещён липофильный эфир доксорубицина и куркумин.

В работе S. Bae [19] рассматривалось влияние 5,7-диметоксифлавон (5,7-ДМФ) на распределение мультикиназного ингибитора сорафениба (является субстратом для белка ABC-транспортёра — белка резистентности рака молочной железы, BCRP) как *in vitro* в клетках, экспрессирующих транспортер оттока, так и *in vivo* у мышей. Результаты исследования показали, что 5,7-ДМФ является многообещающим химиосенсибилизирующим агентом для лечения устойчивости к противоопухолевым препаратам, опосредованной ABC-транспортёрами (в том числе BCRP), благодаря своей низкой токсичности и выраженному ингибированию BCRP.

Одним из веществ, которые рассматриваются в качестве ингибиторов АБС-транспортёров, является кверцетин — природное биохимическое вещество группы флавоноидов. В основе его ингибирующего действия на ABC-транспортёры лежит нарушение гидролиза АТФ [20]. Также кверцетин оказывает влияние на провоспалительную микросреду и уменьшает токсичность химиотерапевтического лечения.

У собак кверцетин значительно улучшает метаболический гомеостаз, влияет на ABC-транспортёры, аргинин/пролиновые пути [21] и фактор некроза опухоли альфа (ФНО-α), а также смягчает течение хронических воспалительных процессов, вызванных эндотоксикозом [22].

Целью работы было оценить целесообразность дальнейшего изучения применения дигидрокверцетина в качестве ингибитора ABCB1 (MDR1) белка-транспортёра у животных, проходящих противораковую терапию.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводилось на базе кафедры общей, частной и оперативной хирургии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» и сети ветеринарных клиник ВЕГА г. Санкт-Петербурга.

В период с 2024 по 2025 год нами было проведено поисковое исследование применения дигидрокверцетина в качестве адъюванта при проведении противоопухолевой терапии.

В исследование были включены одна кошка и две собаки.

Пациент 1. Вид животного: *Felis catus*, порода европейская короткошерстная, пол женский, возраст 14 лет, вес 4,5 кг, кастрирована.

Пациент 2. Вид животного: *Canis lupus familiaris*, порода метис, пол мужской, возраст 9 лет, вес 7,7 кг, кастрирован.

Пациент 3. Вид животного: *Canis lupus familiaris*, порода метис, пол мужской, возраст 7 лет, вес 24,7 кг, кастрирован.

Морфологический диагноз ставился на основании результатов цитологического и гистологического исследований. Цитологические исследования проводились в лаборатории клиники ВЕГА по сертифицированным методикам. Гистологические исследования проводились в лабораториях CYTOVET и «Поиск» по сертифицированным методикам. иммуногистохимические исследования проводились в лабораториях CYTOVET.

Препарат тоцераниб (лекарственная форма таблетки 15 мг) давался перорально в дозе 1,9 мг/кг/48 часов независимо от приёма пищи. Применялся коммерческий

препарат «Палладия» (производитель Zoetis, Италия).

Препарат иматиниб (лекарственная форма таблетки 100 мг) давался перорально в дозе 10 мг/кг/24 часа во время или сразу после еды для уменьшения тошноты (лучше давать с небольшим количеством паштета — вмешать). Применялся коммерческий препарат «Иматиниб» (производитель ФАРМАСИНТЕЗ АО, Россия).

Препарат сорафениб (лекарственная форма таблетки 200 мг) давался перорально в дозе 5 мг/кг два раза в день за 1,5–2 часа до кормления. Применялись следующие коммерческие препараты с действующим веществом сорафениб: «Сорафекаст» (страна производитель Индия) и «Нексавар» (производитель Байер Фарма АГ, Германия).

Препарат лапатиниб (лекарственная форма таблетки 250 мг) давался перорально в дозе 20 мг/кг/24 часа независимо от приёма пищи. Применялся коммерческий препарат «Herduo» (производитель NATCO, Индия).

Препарат траметиниб (лекарственная форма таблетки 2 мг) давался перорально в дозе 0,025 мг/кг/24 часа независимо от приёма пищи. Применялся коммерческий препарат «Мекинист» (производитель Новартис Фарма Штейн АГ, Швейцария).

Поскольку дигидрокверцетин является более фармакологически активным аналогом кверцетина и более часто входит в состав коммерчески доступных препаратов [23], мы использовали БАД с дигидрокверцитином.

Биологически активное вещество (БАВ) дигидрокверцетин давалось перорально в дозе 2–10 мг/кг/24 часа во время кормления (суточная доза делилась на количество кормлений). Применялись коммерчески доступные БАВ «Дигидрокверцетин» таблетки 25 мг (производитель Эвалар, Россия) и «Токсидонт-май с дигидрокверцетином» 75 мл (производитель «Биолит», Россия). Дозы рассчитывались эмпирически, исходя из данных опубликованных исследований на животных, а также рекомендаций для человека.

При назначении препаратов владельцы животных были письменно уведомлены, что применение БАД является экспериментальным и подписывали информированное согласие.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Пациент 1. Основной диагноз: умеренно дифференцированная тубулярная карцинома молочной железы (6 баллов по *Mitotic-Modified Elston and Ellis Grading System*).

В мае 2024 года у животного были обнаружены опухоли молочных желёз, лечение не проводилось. В ноябре 2024 года на компьютерной томографии (КТ) были выявлены объёмное образование краниальной МЖ слева 19×20×23 мм, коллатераль от краниальной поверхностной надчревной артерии до 2 мм, каудальные пакеты справа и слева до 11,5×10×9 мм, подмышечные лимфатические узлы (ЛУ) увеличены до 12 мм, паховый до 12,1 мм, а также одиночные узелки в лёгких до 3 мм. В сторонней клинике было проведено шесть сеансов химиотерапии препаратом доксорубицин 1 мг/кг (без объективного ответа). На фоне введения доксорубицина развилось сопутствующее заболевание — хроническая болезнь почек (ХБП).

С марта 2025 года начат приём таргетного препарата сорафениб 5 мг/кг два раза в сутки. Поскольку доксорубицин может индуцировать развитие МЛУ [24], одновременно с сорафенибом был назначен приём БАВ дигидрокверцетин в дозе 50 мг/гол/24 часа во время кормления (суточная доза делилась на количество кормлений). На фоне приёма сорафениба опухоли уменьшились, выделения стали более скудными.

27.04.2025 была выполнена паллиативная регионарная мастэктомия MR3-4+ML3-4 *en block* с удалением паховых регионарных лимфоузлов. Послеоперационный период — без особенностей, послеоперационные осложнения не были отмечены. В связи с ухудшением почечных показателей с 30.05.2025 препарат сорафениб был заменён на препарат лапа-

тиниб 20 мг/кг 1 раз в сутки. Приём дигидрокверцетина был продолжен параллельно с лапатинибом.

26.06.2025 выполнена паллиативная регионарная мастэктомия ML1-2 *en block* с удалением основных подмышечных лимфоузлов (изменены, субъективно существенно увеличены). На контрольных рентгенограммах отмечено исчезновение метастатических узлов в лёгких, что свидетельствует об эффективности применённого протокола противоопухолевой терапии.

Пациент 2. Основной диагноз: мастоцитома высокой степени злокачественности с метастазированием в регионарный лимфатический узел. Иммунофенотип с уровнем пролиферативной активности Ki -67 ≥10,6% и цитоплазматическим типом экспрессии CD117 в наибольшей степени соответствует диагнозу мастоцитомы неблагоприятной группы риска. C-kit-мутация не обнаружена (ПЦР). На первичный приём онколога поступил 14.06.2025, в анамнезе — проведение трёх нерадикальных операций в сторонней клинике и эксцизионная биопсия. В последние три недели отмечали резкое увеличение предлопаточного ЛУ. В связи агрессивным развитием опухолевого процесса сразу был назначен препарат перорально в дозе 1,9 мг/кг/48 часов. На фоне приёма тоцераниба развился выраженный синдром Дарье в области изменённого ЛУ.

15.06.2025 на КТ выявлены: 1) объёмное образование, перекрывающее границы предлопаточного лимфатического узла с правой стороны; форма неправильная, структура однородная, размер до 47×39,5×77,3 мм; 2) на внутренней поверхности правой грудной конечности (предплечье) объемное образование, структура неоднородная, размер до 24×19×15 мм (рисунок 1).

На фоне приёма тоцераниба проведены две хирургические операции: лимфаденэктомия (01.07.25) и высокая ампутация правой грудной конечности (20.07.25). На контрольном осмотре 03.08.25 было выявлено формирование новообразования по ходу трубки перфорированного дренажа, поставленного после лимфаденэктомии (при цитологическом исследовании подтверждён имплантационный метастаз мастоцитомы). Дополнительно к тоцеранибу была назначена химиотерапия препаратом винбластин. В исследовании J.E. Todd [25] эта комбинация показала свою эффективность при мастоцитомах высокой степени злокачественности и с метастазами. Для уменьшения резистентности опухоли к тоцеранибу было добавлено БАВ дигидрокверцетин в дозе 50 мг/гол/24 часа во время кормления (суточная доза делилась на количество кормлений). Несмотря на то, что и тоцераниб, и винбластин могут вызывать выраженную ЖКТ-токсичность, на фоне приёма дигидрокверцетина у собаки, страдавшей от хронической диареи, наладился стул. Общее состояние на фоне комбинированного лечения удовлетворительное. После окончания курса винбластина дополнительно к тоцеранибу был назначен препарат иматиниб. На фоне сочетанного приёма препаратов метастаз уменьшился (на данный момент не пальпируется).

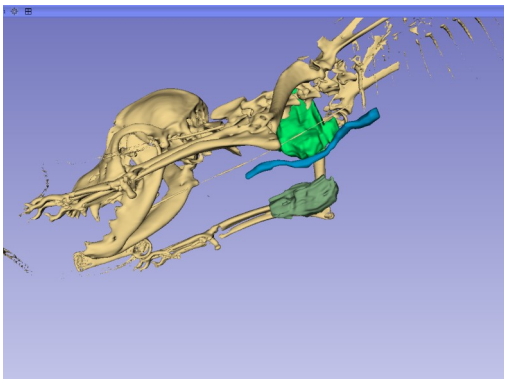


Рисунок 1 – Пациент 2 (сегментация тканей в программе 3d Slicerэ).

Пациент 3. Основной диагноз: переходно-клеточный рак почки с метастазированием в лёгкие (подтверждено цитологическим исследованием образований в лёгких). На первичный приём онколога поступил 03.11.2024, в анамнезе — выяв-

ленное на УЗИ 28.10.24 образование в левой почке, в последующем подтверждённое на КТ 02.11.24. Пациенту была назначена комбинированная терапия препаратами сорафениб и траметиниб. Так как у обоих препаратов описана ЖКТ-токсичность (в том числе токсическое действие на печень) для снижения токсичности был назначен фитопрепарат «Токсидонт-май с дигидрокверцетином», в состав которого входит концентрированный сок свежего (собранного в мае) корня лопуха большого *(Arctium lappa)*, дигидрокверцетин (9,0 мг дигидрокверцетина в 6 г экстракта). На фоне применения БАВ отмечалось удовлетворительное общее состояние собаки.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Результаты нашего поискового исследования подтверждают необходимость проведения клинических исследований применения дигидрокверцетина в качестве ингибитора ABCB1 (MDR1) белка-транспортёра у животных, проходящих противораковую терапию.

AN EXPLORATORY STUDY OF THE USE OF P-GLYCOPROTEIN INHIBITORS IN THERAPY IN ANIMALS WITH ONCOLOGICAL PATHOLOGIES

Nazarova A. V.* – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of surgery (ORCID: 0000-0003-4726-6204); **Semenov B. S.** – Doctor of Veterinary Sciences, Professor (ORCID: 0000-0003-0149-9360); **Kuznetsova T. Sh.** – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor (ORCID: 0000-0002-8981-0696).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* anna.v.nazarova@mail.ru

ABSTRACT

ATP binding cassette (ABC) transporters are a group of proteins whose function is to transport nutrients into the cell and excretion endogenous and exogenous molecules from the cell. The ABCB1(MDR1) gene encodes P-glycoprotein (P-gp), a cellular membrane pump. P-glycoprotein mediated drug transport is present in more places (including the blood brain barrier). P-gp also regulates intestinal absorption. The ABCB1 gene and the P-glycoprotein encoded by it are also responsible for the formation of multidrug resistance (MDR). P-glycoprotein dysfunction can occur both as resulting from neoplasia and as resulting from drug-drug interactions in dog or cat. This makes it relevant to study the mechanisms of MDR formation in animals undergoing cancer therapy, as well as to find effective ways to prevent and reduce MDR. One of the options to increase the effectiveness of cancer therapy and improve the survival of animals, including relapses, metastases and unresectable tumors, is the inclusion of ABC transporter inhibitors in treatment protocols. One of the substances that are considered as inhibitors of ABS transporters is quercetin— a natural biochemical substance of the flavonoid group. In the period from 2024 to 2025, in order to assess the feasibility of further studying the use of quercetin as an inhibitor of the multidrug efflux transporter ABCB1 (MDR1) in animals undergoing cancer therapy, we conducted an exploratory study. The animals included in the study were treated with toceranib, imatinib, sorafenib, lapatinib and trametinib. The biologically active substance dihydroquercetin was used as an adjuvant at a dose of 2-10 mg/kg/24 hours per os. The results of our exploration study confirm the need for clinical studies of the use of quercetin as ABCB1 (MDR1) transporter inhibitor in animals undergoing cancer therapy.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Бойчук С.В., Ивойлова Т.В. Роль ABC-транспортеров в поддержании гомеостаза, патогенезе и терапии онкологических заболеваний. Успехи молекулярной онкологии 2024;11(1):8–21. DOI: https://doi.org/10.17650/2313-805X-2024-11-1-8-21

2. Thurm, C.; Schraven, B.; Kahlfuss, S. ABC Transporters in T Cell-Mediated Physiological and Pathological Immune Responses. Int. J. Mol. Sci. 2021, 22, 9186. https://

doi.org/10.3390/ijms22179186
3. Nguyen, Thi-Thao-Linh, Van-An Duong, and Han-Joo Maeng. 2021. "Pharmaceutical Formulations with P-Glycoprotein Inhibitory Effect as Promising Approaches for Enhancing Oral Drug Absorption and Bioavailability" Pharmaceutics 13, no. 7: 1103. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13071103.
4. Colclough N, Chen K, Johnström P, Strittmatter N, Yan Y, Wrigley GL, Schou M, Goodwin R, Varnäs K, Adua SJ, Zhao M, Nguyen DX, Maglennon G, Barton P, Atkinson J, Zhang L, Janefeldt A, Wilson J, Smith A, Takano A, Arakawa R, Kondrashov M, Malmquist J, Revunov E, Vazquez-Romero A, Moein MM, Windhorst AD, Karp NA, Finlay MRV, Ward RA, Yates JWT, Smith PD, Farde L, Cheng Z, Cross DAE. Preclinical Comparison of the Blood-brain barrier Permeability of Osimertinib with Other EGFR TKIs. Clin Cancer Res. 2021 Jan 1;27(1):189-201. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-1871. Epub 2020 Oct 7. PMID: 33028591.
5. Soussa RW, Woodward A, Marty M, Cannon CM. Breed is associated with the ABCB1-1Δ mutation in Australian dogs. Aust Vet J. 2020 Mar;98(3):79-83. doi: 10.1111/avj.12896. Epub 2019 Nov 19. PMID: 31743433.
6. Ивершина Анастасия Андреевна, Позднякова Татьяна Эрастовна, Дементьева Наталия Викторовна Полиморфизм гена abcb1 (mdr1), ассоциированного с лекарственной чувствительностью у собак породы восточноевропейская овчарка // Известия СПбГАУ. 2024. №4 (78). URL: https://cyberleninka.ru/article/n/polimorfizm-gena-abcb1-mdr1-assotsiirovannogo-s-lekarstvennoy-chuvstvitelnostyu-u-sobak-porody-vostochnoevropeyskaya-ovcharka (дата обращения: 24.10.2025).
7. Gramer I, Karakus E, Hartmann MF, Wudy SA, Bauer N, Moritz A, Aktürk Z, Geyer J. Urinary cortisol metabolites are reduced in MDR1 mutant dogs in a pilot targeted GC-MS urinary steroid hormone metabolome analysis. J Vet Pharmacol Ther. 2022 May;45(3):265-272. doi: 10.1111/jvp.13050. Epub 2022 Mar 11. PMID: 35277861.
8. Mealey KL, Owens JG, Freeman E. Canine and feline P-glycoprotein deficiency: What we know and where we need to go. J Vet Pharmacol Ther. 2023 Jan;46(1):1-16. doi: 10.1111/jvp.13102. Epub 2022 Nov 3. PMID: 36326478; PMCID: PMC10092536.
9. Lim GH, An JH, Park SM, Youn GH, Oh YI, Seo KW, Youn HY. Macrophage induces anti-cancer drug resistance in canine mammary gland tumor spheroid. Sci Rep. 2023 Jun 27;13(1):10394. doi: 10.1038/s41598-023-37311-w. PMID: 37369757; PMCID: PMC10300191.
10. Małek A, Taciak B, Sobczak K, Grzelak A, Wójcik M, Mieczkowski J, Lechowski R, Zabielska-Koczywąs KA. Enhanced Cytotoxic Effect of Doxorubicin Conjugated to Glutathione-Stabilized Gold Nanoparticles in Canine Osteosarcoma-In Vitro Studies. Molecules. 2021 Jun 8;26(12):3487. doi: 10.3390/molecules26123487. PMID: 34201296; PMCID: PMC8227216.
11. Lim GH, An JH, Lee JH, Seo KW, Youn HY. TSG6 affects anti cancer drug resistance and angiogenesis in 3D spheroid model of canine mammary gland tumor cells. Sci Rep. 2025 Aug 22;15(1):30852. doi: 10.1038/s41598-025-12950-3. PMID: 40846720; PMCID: PMC12373961.
12. Cavalca AMB, Brandi A, Fonseca-Alves RH, Laufer-Amorim R, Fonseca-Alves CE. P-Glycoprotein and Androgen Receptor Expression Reveals Independence of Canine Prostate Cancer from Androgen Hormone Stimulation. Int J Mol Sci. 2022 Jan 21;23(3):1163. doi: 10.3390/ijms23031163. PMID: 35163087; PMCID: PMC8835304.
13. Hyokai S, Tanaka H, Aihara N, Kamiie J. Expression of P-glycoprotein and breast cancer resistance protein in three cases of canine lymphoma showing drug resistance. J Vet Med Sci. 2021 Apr 3;83(3):473-477. doi: 10.1292/jvms.20-0718. Epub 2021 Jan 29. PMID: 33518631; PMCID: PMC8025433.
14. Levi M, Salaroli R, Parenti F, De Maria R, Zannoni A, Bernardini C, Gola C, Brocco A, Marangio A, Benazzi C, Muscatello LV, Brunetti B, Forni M, Sarli G. Doxorubicin treatment modulates chemoresistance and affects the cell cycle in two canine mammary tumour cell lines. BMC Vet Res. 2021 Jan

18;17(1):30. doi: 10.1186/s12917-020-02709-5. PMID: 33461558; PMCID: PMC7814552.
15.Braconi L, Bartolucci G, Contino M, Chiaramonte N, Giampietro R, Manetti D, Perrone MG, Romanelli MN, Colabufo NA, Riganti C, Dei S, Teodori E. 6,7-Dimethoxy-2-phenethyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline amides and corresponding ester isosteres as multidrug resistance reversers. J Enzyme Inhib Med Chem. 2020 Dec;35(1):974-992. doi: 10.1080/14756366.2020.1747449. PMID: 32253945; PMCID: PMC7178819.
16.Nielsen, R.B.; Holm, R.; Pijpers, I.; Snoeys, J.; Nielsen, U.G.; Nielsen, C.U. Combinational Inhibition of P-Glycoprotein-Mediated Etoposide Transport by Zosuquidar and Polysorbate 20. Pharmaceutics 2023, 15, 283. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010283.
17.Vicente IST, de Moura FBC, Rozolen JM, Dos Anjos DS, Sobral RA, Alves CEF. Analysis of VEGFR-2 and PDGFR-β expression in canine splenic hemangiosarcoma to identify drug repositioning candidates. Braz J Vet Med. 2024 Aug 6;46:e001524. doi: 10.29374/2527-2179.bjvm001524. PMID: 39131208; PMCID: PMC11315467.
18.Sapino S, Peira E, Chirio D, Chindamo G, Accomasso G, Vercelli C, Riganti C, Salaroglio IC, Gambino G, Re G, Amadori M, Gallarate M. Human and canine osteosarcoma cell lines: How do they react upon incubation with calcium phosphate-coated lipid nanoparticles carrying doxorubicin and curcumin? Int J Pharm. 2025 Jan 5;668:124970. doi: 10.1016/j.ijpharm.2024.124970. Epub 2024 Nov 19. PMID: 39566701.
19.Bae S, D'Cunha R, Shao J, An G. Effect of 5,7-dimethoxyflavone on Bcrp1-mediated transport of sorafenib in vitro and in vivo in mice. Eur J Pharm Sci. 2018 May 30;117:27-34. doi: 10.1016/j.ejps.2018.02.004. Epub 2018 Feb 6. PMID: 29425861.
20.Gonçalves B.M.F., Cardoso D.S.P., Ferreira U.M.J. Overcoming multidrug resistance: flavonoid and terpenoid nitrogen-containing derivatives as ABC transporter modulators. Molecules 2020;25(15):3364. DOI: 10.3390/molecules25153364.
21.Liu XW, Zhang YH, Xu L, Xing JB, Wang ZX, Hu ML, Chen Y, Qi ZL, Ding Y, Zhang X, Ding MX, Zhang XJ, Wan J. Exploring the effects of quercetin-added pancreatic diet on metabolic homeostasis in dogs via metabolomics. PLoS One. 2025 Feb 13;20(2):e0318159. doi: 10.1371/journal.pone.0318159. PMID: 39946409; PMCID: PMC11824997.
22.Móritz AV, Kovács H, Jerzsele Á, Psáder R, Farkas O. Flavonoids in mitigating the adverse effects of canine endotoxemia. Front Vet Sci. 2024 Aug 13;11:1396870. doi: 10.3389/fvets.2024.1396870. PMID: 39193369; PMCID: PMC11347451.
23.Terekhov RP, Savina AD, Pankov DI, Korochkina MD, Taldaev A, Yakubovich LM, Zavadskiy SP, Zhevlakova AK, Selivanova IA. Insights into the stereoisomerism of dihydroquercetin: analytical and pharmacological aspects. Front Chem. 2024 Jul 5;12:1439167. doi: 10.3389/fchem.2024.1439167. PMID: 39050369; PMCID: PMC11267486.
24.Zhou C, Lin Z, Li X, Zhang D, Song P. Establishment and characterization of a multi-drug resistant cell line for canine mammary tumors. Front Vet Sci. 2023 Mar 30;10:1129756. doi: 10.3389/fvets.2023.1129756. PMID: 37077947; PMCID: PMC10108679.
25.Todd JE, Nguyen SM, White J, Langova V, Thomas PM, Tzannes S. Combination vinblastine and palladia for high-grade and metastatic mast cell tumors in dogs. Can Vet J. 2021 Dec;62(12):1335-1340. PMID: 34857971; PMCID: PMC8591577.

REFERENCES

1. Boichuk S.V., Ivoilova T.V. The role of ABC-transporters in homeostasis, cancer pathogenesis and therapy. Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2024;11(1):8–21. (In Russ.). DOI: https://doi.org/10.17650/2313-805X-2024-11-1-8-21.
2.Thurm, C.; Schraven, B.; Kahlfuss, S. ABC Transporters in T Cell-Mediated Physiological and Pathological Immune Responses. Int. J. Mol. Sci. 2021, 22, 9186. https://doi.org/10.3390/ijms22179186

3. Nguyen, Thi-Thao-Linh, Van-An Duong, and Han-Joo Maeng. 2021. "Pharmaceutical Formulations with P-Glycoprotein Inhibitory Effect as Promising Approaches for Enhancing Oral Drug Absorption and Bioavailability" Pharmaceutics 13, no. 7: 1103. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13071103.
4. Colclough N, Chen K, Johnström P, Strittmatter N, Yan Y, Wrigley GL, Schou M, Goodwin R, Varnäs K, Adua SJ, Zhao M, Nguyen DX, Maglennon G, Barton P, Atkinson J, Zhang L, Janefeldt A, Wilson J, Smith A, Takano A, Arakawa R, Kondrashov M, Malmquist J, Revunov E, Vazquez-Romero A, Moein MM, Windhorst AD, Karp NA, Finlay MRV, Ward RA, Yates JWT, Smith PD, Farde L, Cheng Z, Cross DAE. Preclinical Comparison of the Blood-brain barrier Permeability of Osimertinib with Other EGFR TKIs. Clin Cancer Res. 2021 Jan 1;27(1):189-201. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-1871. Epub 2020 Oct 7. PMID: 33028591.
5. Soussa RW, Woodward A, Marty M, Cannon CM. Breed is associated with the ABCB1-1Δ mutation in Australian dogs. Aust Vet J. 2020 Mar;98(3):79-83. doi: 10.1111/avj.12896. Epub 2019 Nov 19. PMID: 31743433.
6. IVERSHINA A.A., POZDNYAKOVA T.E., DEMENTIEVA N.V. POLYMORPHISM OF THE ABCB1 (MDR1) GENE ASSOCIATED WITH DRUG SENSITIVITY IN EASTERN EUROPEAN SHEPHERD DOGS// IZVESTIYA SAINT-PETERSBURG STATE AGRARIAN UNIVERSITY. 2024. #4 (78). URL: https://cyberleninka.ru/article/n/polimorfizm-gena-abcb1-mdr1-assotsiirovannogo-s-lekarstvennoy-chuvstvitelnostyu-u-sobak-porody-vostochnoevropeyskaya-ovcharka.
7. Gramer I, Karakus E, Hartmann MF, Wudy SA, Bauer N, Moritz A, Aktürk Z, Geyer J. Urinary cortisol metabolites are reduced in MDR1 mutant dogs in a pilot targeted GC-MS urinary steroid hormone metabolome analysis. J Vet Pharmacol Ther. 2022 May;45(3):265-272. doi: 10.1111/jvp.13050. Epub 2022 Mar 11. PMID: 35277861.
8. Mealey KL, Owens JG, Freeman E. Canine and feline P-glycoprotein deficiency: What we know and where we need to go. J Vet Pharmacol Ther. 2023 Jan;46(1):1-16. doi: 10.1111/jvp.13102. Epub 2022 Nov 3. PMID: 36326478; PMCID: PMC10092536.
9. Lim GH, An JH, Park SM, Youn GH, Oh YI, Seo KW, Youn HY. Macrophage induces anti-cancer drug resistance in canine mammary gland tumor spheroid. Sci Rep. 2023 Jun 27;13(1):10394. doi: 10.1038/s41598-023-37311-w. PMID: 37369757; PMCID: PMC10300191.
10. Małek A, Taciak B, Sobczak K, Grzelak A, Wójcik M, Mieczkowski J, Lechowski R, Zabielska-Koczywąs KA. Enhanced Cytotoxic Effect of Doxorubicin Conjugated to Glutathione-Stabilized Gold Nanoparticles in Canine Osteosarcoma-In Vitro Studies. Molecules. 2021 Jun 8;26(12):3487. doi: 10.3390/molecules26123487. PMID: 34201296; PMCID: PMC8227216.
11. Lim GH, An JH, Lee JH, Seo KW, Youn HY. TSG6 affects anti cancer drug resistance and angiogenesis in 3D spheroid model of canine mammary gland tumor cells. Sci Rep. 2025 Aug 22;15(1):30852. doi: 10.1038/s41598-025-12950-3. PMID: 40846720; PMCID: PMC12373961.
12. Cavalca AMB, Brandi A, Fonseca-Alves RH, Laufer-Amorim R, Fonseca-Alves CE. P-Glycoprotein and Androgen Receptor Expression Reveals Independence of Canine Prostate Cancer from Androgen Hormone Stimulation. Int J Mol Sci. 2022 Jan 21;23(3):1163. doi: 10.3390/ijms23031163. PMID: 35163087; PMCID: PMC8835304.
13. Hyokai S, Tanaka H, Aihara N, Kamiie J. Expression of P-glycoprotein and breast cancer resistance protein in three cases of canine lymphoma showing drug resistance. J Vet Med Sci. 2021 Apr 3;83(3):473-477. doi: 10.1292/jvms.20-0718. Epub 2021 Jan 29. PMID: 33518631; PMCID: PMC8025433.
14. Levi M, Salaroli R, Parenti F, De Maria R, Zannoni A, Bernardini C, Gola C, Brocco A, Marangio A, Benazzi C, Muscatello LV, Brunetti B, Forni M, Sarli G. Doxorubicin treatment modulates chemoresistance and affects the cell cycle in two canine mammary

tumour cell lines. BMC Vet Res. 2021 Jan 18;17(1):30. doi: 10.1186/s12917-020-02709-5. PMID: 33461558; PMCID: PMC7814552.
15. Braconi L, Bartolucci G, Contino M, Chiaramonte N, Giampietro R, Manetti D, Perrone MG, Romanelli MN, Colabufo NA, Riganti C, Dei S, Teodori E. 6,7-Dimethoxy-2-phenethyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline amides and corresponding ester isosteres as multidrug resistance reversers. J Enzyme Inhib Med Chem. 2020 Dec;35(1):974-992. doi: 10.1080/14756366.2020.1747449. PMID: 32253945; PMCID: PMC7178819.
16. Nielsen, R.B.; Holm, R.; Pijpers, I.; Snoeys, J.; Nielsen, U.G.; Nielsen, C.U. Combinational Inhibition of P-Glycoprotein-Mediated Etoposide Transport by Zosuquidar and Polysorbate 20. Pharmaceutics 2023, 15, 283. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010283.
17. Vicente IST, de Moura FBC, Rozolen JM, Dos Anjos DS, Sobral RA, Alves CEF. Analysis of VEGFR-2 and PDGFR-β expression in canine splenic hemangiosarcoma to identify drug repositioning candidates. Braz J Vet Med. 2024 Aug 6;46:e001524. doi: 10.29374/2527-2179.bjvm001524. PMID: 39131208; PMCID: PMC11315467.
18. Sapino S, Peira E, Chirio D, Chindamo G, Accomasso G, Vercelli C, Riganti C, Salaroglio IC, Gambino G, Re G, Amadori M, Gallarate M. Human and canine osteosarcoma cell lines: How do they react upon incubation with calcium phosphate-coated lipid nanoparticles carrying doxorubicin and curcumin? Int J Pharm. 2025 Jan 5;668:124970. doi: 10.1016/j.ijpharm.2024.124970. Epub 2024 Nov 19. PMID: 39566701.
19. Bae S, D'Cunha R, Shao J, An G. Effect of 5,7-dimethoxyflavone on Bcrp1-mediated transport of sorafenib in vitro and in vivo in mice. Eur J Pharm Sci. 2018 May 30;117:27-34. doi: 10.1016/j.ejps.2018.02.004. Epub 2018 Feb 6. PMID: 29425861.
20. Gonçalves B.M.F., Cardoso D.S.P., Ferreira U.M.J. Overcoming multidrug resistance: flavonoid and terpenoid nitrogen-containing derivatives as ABC transporter modulators. Molecules 2020;25(15):3364. DOI: 10.3390/molecules25153364.
21. Liu XW, Zhang YH, Xu L, Xing JB, Wang ZX, Hu ML, Chen Y, Qi ZL, Ding Y, Zhang X, Ding MX, Zhang XJ, Wan J. Exploring the effects of quercetin-added pancreatic diet on metabolic homeostasis in dogs via metabolomics. PLoS One. 2025 Feb 13;20(2):e0318159. doi: 10.1371/journal.pone.0318159. PMID: 39946409; PMCID: PMC11824997.
22. Móritz AV, Kovács H, Jerzsele Á, Psáder R, Farkas O. Flavonoids in mitigating the adverse effects of canine endotoxemia. Front Vet Sci. 2024 Aug 13;11:1396870. doi: 10.3389/fvets.2024.1396870. PMID: 39193369; PMCID: PMC11347451.
23. Terekhov RP, Savina AD, Pankov DI, Korochkina MD, Taldaev A, Yakubovich LM, Zavadskiy SP, Zhevlakova AK, Selivanova IA. Insights into the stereoisomerism of dihydroquercetin: analytical and pharmacological aspects. Front Chem. 2024 Jul 5;12:1439167. doi: 10.3389/fchem.2024.1439167. PMID: 39050369; PMCID: PMC11267486.
24. Zhou C, Lin Z, Li X, Zhang D, Song P. Establishment and characterization of a multi-drug resistant cell line for canine mammary tumors. Front Vet Sci. 2023 Mar 30;10:1129756. doi: 10.3389/fvets.2023.1129756. PMID: 37077947; PMCID: PMC10108679.
25. Todd JE, Nguyen SM, White J, Langova V, Thomas PM, Tzannes S. Combination vinblastine and palladia for high-grade and metastatic mast cell tumors in dogs. Can Vet J. 2021 Dec;62(12):1335-1340. PMID: 34857971; PMCID: PMC8591577.

Редакция журнала
«Международный вестник ветеринарии»
196084, Санкт-Петербург, Черниговская 5,
СПбГУВМ.
Телефон/факс (812) 387-11-58
Mail to: farm_vestnik@mail.ru