DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ

№1

International bulletin of Veterinary Medicine

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ- 2024

www.spbguvm.ru

№1/2024

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ

Международный ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ 1.2024

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 26.03.2024
Подписано к печати 02.04.2024
Формат 70×100 1/16.
Бумага глянцевая № 1. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 27,0+0,25 цв. вкл.
Усл. Кр.-отт. 18,2.
Тираж 1001 экз.

Editorial council
K.V. Plemyashov - member.-corr. RAS, Doctor of Science, prof., St. Petersburg
L.Y. Karpenko - deputy editor, doctor of biology sciences, professor, St. Petersburg.
A.I. Yatusevich - deputy chief editor, doctor of veterinary sciences , professor, academic of RAS, Vitebsk.
Editorial council
N.L. Andreeva - doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg
L. M. Belova - doctor of biology sciences, professor, St. Petersburg
M.I. Gulyukin - academic of RAS, doctor of veterinary sciences, prof., Moscow
N.V. Zelenevskiy - doctor of veterinary medicine, doctor of economics, prof, St. Petersburg.
S. P. Kovalev - doctor of veterinary sciences, prof., St. Petersburg.
A.A. Kudryashov - doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg.
V. A. Kuzmin - doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg.
M.N. Makarova - doctor of medicine, professor, St. Petersburg.
B.S. Semenov - doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg
A.M. Smirnov - academic of RAS, doctor of veterinary sciences, prof., Moscow
V.V. Sochnev - corr. member of RAS, doctor of vet. sciences, prof., N. Novgorod.
A.A. Stekolnikov - editor in chief, academic of RAS, doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg
A.A. Sukhinin - doctor of biology sciences., prof, St. Petersburg
A.N. Shikov - doctor of pharmacology sciences, prof., St. Petersburg
Mustafa Atasever - professor., Dr. Erzurum, Turkey
Y.K. Kovalenok - doctor of veterinary sciences, prof., Vitebsk
Kushva Galiba Mammadova - doctor, Azerbaijan
N.B. Sarsembayeva - doctor of vet. sciences, prof., Almaty, Republic of Kazakhstan
Ilia Tsachev - DVM, MSc, PhD, DSc, Prof., Stara Zagora, Bulgaria
O.Yu. Bespyatykh - doctor of biology sciences, associate professor, Kirov
V.A. Ilyuha - doctor of biology sciences, associate professor, Petrozavodsk
I.A. Plotnikov - doctor of biology sciences, professor, Kirov
S.V. Beketov - doctor of biology sciences, Samara
V.N. Voronin - doctor of biology sciences, professor, St. Petersburg
A.N. Kvochko - doctor of biology sciences, professor, Stavropol
A.O. Frolov - doctor of biology sciences, senior science member, St. Petersburg
O.I. Stanishevskaya - doctor of biology sciences, professor, St. Petersburg
A.E. Bolgov - doctor of agricultural sciences, professor, Petrozavodsk
I.S. Shapiev - doctor of agricultural sciences, professor, St. Petersburg
N.V. Pristach - doctor of agricultural sciences, professor, St. Petersburg
V.B. Galetsky - doctor of agricultural sciences, St. Petersburg.
L.V. Romanenko - doctor of agricultural sciences, member of RAE, St. Petersburg
V.I. Maximov - doctor of biology sciences, professor, Moscow
Editorial and technical Department
S.I. Melnikov - PhD of Vet. Med., St. Petersburg
O.S. Popova - PhD of Vet Med., St. Petersburg
V.V. Kriukova - PhD of Vet Med., St. Petersburg (English)

Sent to 26.03.2024
Signed for printing 02.04.2024
The format of 100 × 70 1/16 .
Glossy paper number 1. Offset printing.
Conv. Pec. liter. 27,0+0,25 fl. incl.
Conv. Cr. - ott . 18.2 .
Circulation 1001 copies.

На 1 странице обложки: Фундаментальная библиотека ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» основана в 1922 году.

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	• *Применение синтетического пептида на основе иммуногенного эпитопа GP51 для серологической диагностики вируса лейкоза крупного рогатого скота. Усольцев К.В., Горбунова М.Е., Шангараев Р.И., Зайнуллин Л.И., Хаертынов К.С., Осянин К.А., Хаммадов Н.И.*	**12**
	• *Оптимизация протокола сборки рекомбинантных аденоассоциированных вирусов 2 серотипа для доставки генов вируса африканской чумы свиней в клетки млекопитающих. Галеева А.Г., Ефимова М.А., Закирова Е.Ю., Хаммадов Н.И., Хисамутдинов А.Г., Гарипов Л.Н., Мингалеев Д.Н., Равилов Р.Х.*	**22**
	• *Анализ эпизоотической ситуации по инфекционным болезням пальцев и копытец крупного рогатого скота в отдельных регионах Российской Федерации. Хузин Д.А., Тарасова Е.Ю., Потехина Р.М., Юсупов С.А., Лукина Г.Р., Быкова П.В.*	**33**
	• *Иммунологические свойства инактивированных вакцин против ньюкаслской болезни на основе антигенов вируса VII и II генотипа. Мороз Н.В., Долгов Д.Л., Комаров И.А., Кулаков В.Ю., Вершинина М.А.*	**41**
Инвазионные болезни	• *Особенности распространения отодектоза при клеточном разведении пушных зверей в звероводческих хозяйствах Тверской области. Ромашова Е. Б.*	**48**
	• *Паразитическая цестода Cyathocephalus Truncatus как индикатор локализации самонатурализовавшейся популяции американского гольца (Salvelinus Fontinalis) в бассейне р. Стрелки. Новиков А.А., Семененко Н.А.*	**57**
	• *Эффективность акарицидных препаратов при псороптозе крупного рогатого скота. Гаврилова Н.А.*	**63**
	• *Морфологические особенности капсул личинок трихинелл в мышечной ткани барсуков Амурской области. Бондаренко Г.А., Соловьева И.А., Трухина Т.И.*	**69**
Фармакология, токсикология, фармация	• *Влияние карбетоцина на молочную железу свиней. Филатов А.В., Минин А.В.*	**77**
	•*Особенности клиренса экзогенного сорбитола у лабораторных животных. Андреева Н.Л., Понамарев В.С.*	**83**
	• *Фармакокинетические параметры D-глюцитола у лабораторных животных в контексте оценки функционального состояния печени. Андреева Н.Л., Понамарев В.С., Погодаева П.С., Кострова А.В.*	**91**
	• *Дехорионизация эмбрионов DANIO RERIO для оценки острой токсичности органоминеральных хелатных комплексов. Полистовская П.А., Карпенко Л.Ю., Махнин И.А., Ажикина О.Ю.*	**99**
	• *Оценка эффективности сорбционно-метаболической кормовой добавки в условиях птицефабрики. Попова О.С.*	**106**
	• *Влияние органоминарального хелатного комплекса на репродуктивную функцию самок и выживаемость икры DANIO RERIO. Полистовская П.А., Карпенко Л.Ю., Махнин И.А., Ажикина О.Ю.*	**112**
	• *Производственные испытания сорбционной кормовой добавки для радужной форели. Попова О.С., Алехин Ю.Н.*	**120**

Зоогигиена, санитария, кормление	• *Влияние различных препаратов на выживаемость малька стерляди при бактериальном загрязнении воды. Микряков Д.В., Кузьмичева С.В., Новиков Д.А.*	**127**
	• *Содержание афлатоксина М1 в молоке коров ферм Турции: влияние НА качество молока и эффективность связывания микотоксина адсорбентом на основе глины. Йилмаз Д.А.*	**133**
	• *Экспериментальное обоснование влияния хелатных соединений микроэлементов на химический состав мяса перепелов. Лазарева М.В., Шкиль Н.А.*	**142**
	• *Использование экстракта Quercus cortex и хлортетрациклина в рационе бройлеров: переваримость корма, убойные качества бройлеров и содержание химических веществ в организме бройлеров Букарева Е.А., Лазебник К.С., Рахматуллин Ш.Г.*	**155**
	• Производство корма для рыб аквапонным методом. Максим Е.А., Юрин Д.А., Гнеуш А.Н., Тлецерук И.Р., Скамарохова А.С.	**166**
	• *Сравнительный анализ интестинальной микрофлоры кишечника форели радужной, отобранной с различных рыбоводных хозяйств республики Карелия. Сидорова Н.А., Карпенко Л.Ю., Бахта А.А., Савушкин А.И. Никонов И.Н.*	**172**
	• *Органолептические, физико-химические и микробиологические показатели мяса цыплят-бройлеров при сочетанном токсикозе. Сагдеева З.Х., Софронова А.В., Сагдеев Д.Р., Матросова Л.Е., Танасева С.А., Идрисова Э.И.*	**184**
	• *Влияние загрязняющих веществ на ихтиофауну Ладожского озера и меры профилактики. Романов А.Ю., Аршаница Н.М., Колосовская Е.В., Аникина В.В., Гребенников В.А.*	**192**
	• *Дрожжевые грибы в этиологии микозов животных. Маноян М.Г., Гуршева А.С., Габузян Н.А., Панин А.Н.*	**202**
	• *Влияние пробиотического препарата «Экофлор» на протеолитическую активность кишечника стерляди. Тарлева А.Ф., Микряков Д.В., Жандалгарова А.Д.*	**215**
Биохимия, анатомия, физиология	• *Анатомо-топографическое обоснование различных доступов к проксимальному эпифизу большеберцовой кости. Рыбалкин С.М., Щипакин М.В. Мельников С.И.*	**224**
	• *Анатомо-топографические особенности ягодичной группы мышц экстензоров и ротаторов тазобедренного сустава у кошки породы мэйн-кун. Оганов Э.О., Слесаренко Н.А., Широкова Е.О.*	**233**
	• *Артериальные магистрали стопы американского енота (Procyon lotor). Былинская, Д.С., Щипакин, М.В.*	**244**
	• *Особенности анатомии правой половины сердца у гоголя обыкновенного (Bucephala clangula). Тарасевич В.Н., Жилин Р.А., Басацкая Ю.С., Тарасевич А.Н.*	**251**
	• *Особенности адаптации кожного покрова индеек в промышленных условиях. Сидорова К.А., Краснолобова Е.П., Веремеева С.А., Козлова С.В., Черменина Н.А.*	**259**
	• *Тендинопатии поверхностного сгибателя пальца у лошадей: морфологические изменения в средней трети пясти. Борхунова Е.Н., Жукова, М.В., Гасангусейнова Э.К.*	**268**

	•*Показатели общей резистентности быков-производителей в зависимости от возраста, происхождения и породы. Абилов А.И., Новгородова И.П., Артемьева О.А., Комбарова Н.А., Корнеенко-Жиляев Ю.А.*	**277**
	• *Вычисление референтных интервалов для показателей тиреоидных гормонов и кортизола у лошадей. Васильева С.В., Карпенко Л.Ю.*	**287**
	•*Скелетотопические особенности подбородочного отверстия у животных. Иванцов В.А., Кораблева Д.Д., Скворцова А.А.*	**295**
	•*Анатомо-топографическое обоснование биопсии внутрисуставных структур при инфекционном полиартрите кошек. Рыбалкин С.М., Щипакин, М.В., Мельников С.И.*	**301**
	•*Оценка физиологических особенностей кардиогемодинамики лошадей методом объемной компрессионной осциллометрии. Степура Е.Е.*	**310**
Акушерство и гинекология	• *Исследование эффекта эстральной сыворотки коров при добавлении в среду для дозревания ооцит-кумулюсных комплексов IN VITRO. Шульгин И.К., Ротарь Л.Н., Шульгина В.Д.*	**318**
	• *Определение маркера виментина в плаценте коров в норме и при задержании последа. Авдеенко В.С., Макавчик С.А., Сафронов Д.И., Моисеева К.А.*	**325**
	• *Клинико-экспериментальное обоснование использования пониженных концентраций ФСГ при проведении суперовуляции у высокопродуктивных коров. Ачилов В.В., Никитин Г.С.*	**336**
	• *Ассоциация полиморфизма гена FGF2 с экономически значимыми признаками коров голштинской породы республики Татарстан. Муханина Е.Н., Сафина Н.Ю., Шакиров Ш.К., Гайнутдинова Э.Р., Фаттахова З.Ф.*	**342**
	• *Сравнение методов морфологической оценки сперматозоидов баранов с использованием набора SPERM BLUE и окрашивания по Романовскому-Гимзе. Корочкина Е.А., Финагеев Е.Ю., Главацкая Д.Е., Пушкина В. С.*	**350**
Хирургия	• *Методика чрескостного остеосинтеза при травматическом вывихе бедренной кости в тазобедренном суставе у собак. Антонов Н.И.*	**356**
	• *Купирование и миотомия мышц хвоста как косметические операции у лошадей в европейских печатных источниках XVII-XVIII веков. Виноходова М.В., Ярощук А.И.*	**365**
	• *Сезонное проявления гниения стрелки копыт у лошадей. Кириллов А.А., Стекольников А.А.*	**375**
Незаразные болезни	• *Гематологические проявления паранеопластических синдромов у собак. Вильмис Д. А.*	**381**
	• *Молекулярно-ориентированная терапия опухолей лёгкого у животных при BRAF мутациях – возможности и ограничения метода. Назарова А.В., Кузнецова Т.Ш., Семенов Б.С., Колодяжный П.А.*	**392**

• *Актуальность лечения опухолей легкого у мелких домашних животных и перспективы применения таргентной терапии при EGFR и ALK/ROS1 мутациях на примере клинических данных гуманной и ветеринарной медицины. Семенов Б.С., Назарова А.В., Кузнецова Т.Ш., Колодяжный П.А.* **403**

• *Роль полиморфизма LEP R25C в предрасположенности коров к кетозу. Сабетова К.Д., Лемякин А.Д., Чаицкий А.А., Щеголев П.О., Баданина Л.С., Метляев Н.Ю., Дудихин А.С., Кочуева Н.А.* **415**

• *Сравнительное исследование протоколов химиотерапии при лимфоме у собак. Гурина Е.Р., Лунегов А.М.* **427**

CONTENTS

Infectious diseases	• *The use of a synthetic peptide based on the immunogenic epitope GP51 for the serological diagnosis of bovine leukemia virus. Usoltsev K.V., Gorbunova M.E., Shangaraev R.I., Zainullin L.I., Khaertynov K.S., Ostanin K.A., Khammatov N.I.*	**12**
	• *Optimization of the protocol for the assembly of recombinant adenoassociated serotype 2 viruses for the delivery of African swine fever virus genes into mammalian cells. Galeeva A.G., Efimova M.A., Zakirova E.Yu., Hammadov N.I., Khisamutdinov A.G., Garipov L.N., Mingaleev D.N., Ravilov R.H.*	**22**
	• *Analysis of the epizootic situation of infectious diseases of the fingers and hooves of cattle in certain regions of the Russian Federation. Khuzin D.A., Tarasova E.Yu., Potekhina R.M., Yusupov S.A., Lukina G.R., Bykova P.V.*	**33**
	• *Immunological properties of inactivated vaccines against Newcastle disease based on virus antigens VII and II the genotype. Moroz N.V., Dolgov D.L., Komarov I.A., Kulakov V.Yu., Vershinina M.A.*	**41**
Invasive diseases	• *Features of the spread of otodectosis in the cellular breeding of fur-bearing animals in fur farms of the Tver region. Romashova E. B.*	**48**
	• *Parasitic Cyathocephalus Truncatus cestodes as an indicator of localization of self-naturalized populations of American char (Salvelinus Fontinalis) in the Strelka River basin. Novikov A.A., Semenenko N.A.*	**57**
	• *The effectiveness of acaricidal drugs in bovine psoroptosis. Gavrilova N.A.*	**63**
	•*Morphological features of capsules of trichinella larvae in the muscle tissue of badgers of the Amur region. Bondarenko G.A., Solovyova I.A., Trukhina T.I.*	**69**
Pharmacology, toxicology, pharmacy	• *The effect of carbetocin on the mammary gland of pigs. Filatov A.V., Minin A.V.*	**77**
	• *Features of clearance of exogenous sorbitol in laboratory animals. Andreeva N.L., Ponomarev V.S.*	**83**
	• *Pharmacokinetic parameters of D-glucitol in laboratory animals in the context of assessing the functional state of the liver. Andreeva N.L., Ponomarev V.S., Pogodaeva P.S., Kostrova A.V.*	**91**
	• *Dehorionization of DANIO RERIO embryos to assess the acute toxicity of organomineral chelate complexes. Polistovskaya P.A., Karpenko L.Yu., Maznin I.A., Anikina O.Yu.*	**99**
	• *Evaluation of the effectiveness of a sorption-metabolic feed additive in a poultry farm. Popova O.S.*	**106**
	• *The effect of an organomineral chelate complex on the reproductive function of females and the survival of DANIO RERIO eggs. Polistovskaya P.A., Karpenko L.Yu., Makhonin I.A., Azhikina O.Yu.*	**112**
	• *Production tests of a sorption feed additive for rainbow trout. Popova O.S., Alyokhin Yu.N.*	**120**

Zoohygiene, sanitation, feeding	• *The effect of various drugs on the survival of sterlet fry in bacterial contamination of water. Mikryakov D.V., Kuzmicheva S.V., Novikov D.A.*	**127**
	• *The content of aflatoxin M1 in the milk of cows from Turkish farms: the effect on milk quality and the effectiveness of mycotoxin binding by a clay-based adsorbent. Yilmaz D.A.*	**133**
	• *Experimental substantiation of the effect of chelated compounds of trace elements on the chemical composition of quail meat. Lazareva M.V., Shkil N.A.*	**142**
	• *The digestibility of feed, the slaughter qualities of broilers and the content of chemicals in the body of broilers. Bukareva E.A., Lazebnik K.S., Rakhmatullin Sh.G.*	**155**
	• *Production of fish feed by the aquaponic method. Maxim E.A., Yurin D.A., Gneush A.N., Tletseruk I.R., Skamarokhova A.S.*	**166**
	• *Comparative analysis of intestinal intestinal microflora of rainbow trout selected from various fish farms of the republic Karelia. Sidorova N.A., Karpenko L.Yu., Bakhta A.A., Savushkin A.I. Nikonov I.N.*	**172**
	•*Organoleptic, physico-chemical and microbiological parameters of broiler chicken meat in combined toxicosis. Sagdeeva Z.H., Sofronova A.V., Sagdeev D.R., Matrosova L.E., Tanaseva S.A., Idrisova E.I.*	**184**
	• *The effect of pollutants on the ichthyofauna of Lake Ladoga and preventive measures. Romanov A.Yu., Arshanitsa N.M., Kolosovskaya E.V., Anikina V.V., Grebennikov V.A.*	**192**
	•*Yeast fungi in the etiology of animal mycoses. Manoyan M.G., Gursheva A.S., Gabuzyan N.A., Panin A.N.*	**202**
	• *The effect of the probiotic drug "Ecoflor" on the proteolytic activity of the sterlet intestine. Tarleva A.F., Mikryakov D.V., Zhandalgarova A.D.*	**215**
Biochemistry, morphology, physiology	• *Anatomical and topographic substantiation of various accesses to the proximal epiphysis of the tibia. Rybalkin S.M., Shchipakin M.V. Melnikov S.I.*	**224**
	• *Anatomical and topographic features of the gluteal muscle group of extensors and rotators of the hip joint in a Maine Coon cat. Oganov E.O., Slesarenko N.A., Shirokova E.O.*	**233**
	• *Arterial highways of the foot of the American raccoon (Procyon lotor). Bylinskaya, D.S., Shchipakin, M.V.*	**244**
	• *Features of the anatomy of the right half of the heart in the common Gogol (Bucephala clangula). Tarasevich V.N., Zhilin R.A., Basatskaya Y.S., Tarasevich A.N.*	**251**
	• *Features of adaptation of the skin of turkeys in industrial conditions. Sidorova K.A., Krasnolobova E.P., Veremeeva S.A., Kozlova S.V., Cheremena N.A.*	**259**
	• *Tendinopathy of the superficial flexor of the finger in horses: morphological changes in the middle third of the pastern. Borkhunova E.N., Zhukova, M.V., Gasanguseynova E.K.*	**268**
	• *Indicators of the general resistance of breeding bulls depending on age, origin and breed. Abilov A.I., Novgorodova I.P., Artemyeva O.A., Komarova N.A., Korneenko-Zhilyaev Yu.A.*	**277**

	• *Calculation of reference intervals for indicators of thyroid hormones and cortisol in horses. Vasilyeva S.V., Karpenko L.Y.*	**287**
	• *Skeletotopic features of the chin opening in animals. Ivantsov V.A., Korableva D.D., Skvortsova A.A.*	**295**
	• *Anatomical and topographic substantiation of biopsy of intraarticular structures in infectious polyarthritis of cats. Rybalkin S.M., Shchipakin, M.V., Melnikov S.I.*	**301**
	• *Assessment of the physiological features of equine cardiohemodynamics by volumetric compression oscillometry. Stepura E.E.*	**310**
Obstetrics, gynecology	• *Investigation of the effect of cow estrous serum when added to the maturation medium of oocyte-cumulus complexes IN VITRO. Shulgin I.K., Rotar L.N., Shulgina V.D.*	**318**
	• *Determination of the vimentin marker in the placenta of cows in normal and delayed afterbirth. Avdeenko V.S., Makavchik S.A., Safronov D.I., Moiseeva K.A.*	**325**
	• *Clinical and experimental substantiation of the use of reduced concentrations of FSH during superovulation in highly productive cows. Achilov V.V., Nikitin G.S.*	**336**
	• *Association of FGF2 gene polymorphism with economically significant traits of Holstein cows of the Republic of Tatarstan. Mukhanina E.N., Safina N.Yu., Shakirov S.K., Gainutdinova E.R., Fattakhova Z.F.*	**342**
	• *Comparison of methods for morphological evaluation of sheep spermatozoa using the SPERM BLUE kit and Romanovsky-Giemse staining. Korochkina E.A., Finageev E.Yu., Glavatskaya D.E., Pushkina V. S.*	**350**
Surgery	•*The technique of transosseous osteosynthesis in traumatic dislocation of the femur in the hip joint in dogs. Antonov N.I.*	**356**
	• *Cupping and myotomy of the tail muscles as cosmetic operations in horses in European printed sources of the XVII- XVIII centuries. Vinokhodova M.V., Yaroshchuk A.I.*	**365**
	• *Seasonal manifestations of rotting hoof arrows in horses. Kirillov A.A.Pushkina V. S.*	**375**
Non-communicable diseases	• *Hematological manifestations of paraneoplastic syndromes in dogs. Vilmis D. A.*	**381**
	• *Molecular-oriented therapy of lung tumors in animals with BRAF mutations – possibilities and limitations of the method. Nazarova A.V., Kuznetsova T.S., Semenov B.S., Kolodyazhny P.A.*	**392**
	• *The relevance of the treatment of lung tumors in small domestic animals and the prospects for the use of targeted therapy for EGFR and ALK/ROS1 mutations on the example of clinical data from humane and veterinary medicine. Semenov B.S., Nazarova A.V., Kuznetsova T.S., Kolodyazhny P.A.*	**403**
	• *The role of LEPR 25C polymorphism in the predisposition of cows to ketosis. Sabetova K.D., Lemyakin A.D., Chaitsky A.A., Shchegolev P.O., Badanina L.S., Metlyaev N.Yu., Dudikhin A.S., Kochueva N.A.*	**415**
	• *Comparative study of chemotherapy protocols for lymphoma in dogs. Gurina E.R., Lunegov A.M.*	**427**

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК: 619:616-097:578.828.11
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.12

ПРИМЕНЕНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА НА ОСНОВЕ ИММУНОГЕННОГО ЭПИТОПА GP51 ДЛЯ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСА ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Усольцев К.В.– канд. ветеринар. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-5279-9836); **Горбунова М.Е.*** – мл. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-0707-2117); **Шангараев Р.И**. – канд. ветеринар. наук, науч. сотр. (ORCID 0000-0003-3689-1442); **Зайнуллин Л.И**. – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-3086-4921); **Хаертынов К.С**. – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-4764-560X); **Осянин К.А.**– канд. биол. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-2763-8605); **Хаммадов Н.И.** – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-5669-1486).

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»

*maria.metax@bk.ru

Ключевые слова: *вирус лейкоза, антиген, антитела, gp51, синтетический пептид, иммуноферментный анализ*

Keywords: *leukemia virus, antigen, epitope, antibodies, gp51, synthetic peptide, enzyme immunoassay*

Поступила: 15.12.2023 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Диагностика лейкоза остается одной из ключевых проблем при проведении оздоровительных мероприятий в неблагополучных по данному заболеванию хозяйствах. В Российской Федерации для выявления возбудителя лейкоза применяются различные методы, в том числе серологические, одним из которых является иммуноферментный анализ (ИФА). Принцип непрямого варианта ИФА заключается в выявлении комплекса, образованного антигеном, иммобилизованном на поверхности лунок полистиролового планшета и специфическими антителами, содержащимися в пробах сыворотки крови или молоке крупного рогатого скота. Настоящая работа посвящена изучению возможности применения синтетического пептида, представляющего собой аминокислотную последовательность эпитопов белка gp51 вируса лейкоза, в качестве антигена для ИФА при индикации вируса лейкоза крупного рогатого скота. Для разработки способа ИФА нами был сконструирован и синтезирован антиген – синтетический пептид BLVpep (NCKYSNQCGDQGSFYVNHQILFLHLKQCHGIFTLTWEIWNC). С целью наилучшей

сенсибилизации данного пептида были отработаны основные параметры постановки ИФА. В частности, определена оптимальная концентрация пептида для сенсибилизации планшета – 1,0 мкг/мл, блокирующего раствора – 3% раствор сухого обезжиренного молока, антивидового пероксидазного конъюгата – 1:40000, подобран реакционный буфер взаимодействия «антиген-антитело» – ФСБ-Т (pH 7,3), установлен минимальный титр антител к возбудителю, выявляемый в сыворотках крови больных лейкозом коров – 1:1600. Представленный в настоящей работе способ ИФА может быть использован как основа при создании тест-системы для выявления возбудителя лейкоза крупного рогатого скота и найти широкое применение в ветеринарной практике для серологической диагностики.

Лейкоз крупного рогатого скота распространен во многих странах мира: США, страны Центральной и Северной Европы, Латинской Америки, Африки Ближнего Востока, Юго-Восточной Азии. Первый случай лейкоза в России зарегистрирован в 1962 г. в Краснодарском крае [1]. С 1997-2022 гг. в нашей стране лейкоз является наиболее распространенным заболеванием среди инфекционных патологий крупного рогатого скота [2, 3]. Так, в 2022 году в Российской Федерации лейкоз был зарегистрирован на территории 64 субъектов и зафиксировано 6668 неблагополучных пунктов по данной инфекции. Эпизоотическая ситуация в Республике Татарстан характеризуется эндемичностью [4].

Эффективность оздоровительных мероприятий в первую очередь зависит от своевременного проведения диагностических исследований с применением высокочувствительных и специфичных лабораторных методов индикации возбудителя [5]. На сегодняшний день для диагностики вируса лейкоза крупного рогатого скота (ВЛ КРС) применяются различные серологические методы такие как реакция иммунодиффузии (РИД), иммуноферментный анализ (ИФА) и молекулярно-генетические – полимеразная цепная реакция (ПЦР). Серологическая диагностика лейкоза в основном основывается на использовании в качестве антигена вирусных белков p24 и gp51. С помощью данных методов выявляют специфические к ВЛ КРС антитела в различных биологических жидкостях. На основе p24 и gp51 антигенов и специфических моноклональных антител разработаны различные варианты тест-систем [6, 7]. Основным источником антигенов gp51 и p24 является вирус, выращиваемый в культурах клеток почек эмбриона овцы (FLK), хронически инфицированных вирусом. Выделение и очистка вируса из клеток FLK является малоэффективным и трудоемким процессом, с низким выходом конечного продукта [6].

На сегодняшний день для разработки серологических тест-систем начали использоваться синтетические антигены, которые обладают некоторыми преимуществами по сравнению с антигенными компонентами, полученными на культурах клеток, среди которых: высокая специфичность, физико-химическая стабильность, возможность использования большего разнообразия потенциальных мишеней, адаптация материала полимера под конкретные задачи [6, 8].

Синтетические пептиды представляют собой искусственно созданные аминокислотные последовательности участков различных белковых молекул. Так, можно создать синтетический пептид, состоящий из специфичных иммуногенных эпитопов ВЛ КРС и использовать его в качестве антигена при разработке различных серологических диагностикумов. Иммуногенные эпитопы представлены в соответствующих базах данных, Lanlan Bai et al., предлагают библиотеку из 115 перекрывающихся пептидов, охватывающих все белки гена *env* (gp51 и gp30) и *gag* (p15, p24 и p12) [9]. Однако наиболее предпочтительными для разработки являются пептиды, формирующие белок gp51, т.к. он является основной мишенью противовирусного иммунитета, на это указывает быстрое появление нейтрализующих антител после заражения вирусом. К тому

же в отличие от белка gp51, антитела против p24 не обнаруживаются у животных с низкой провирусной нагрузкой в алейкемической стадии инфекционного процесса [10].

Таким образом, можно предположить, что иммуноферментный анализ, где в качестве одной из антигенной составляющей будут применяться синтетические пептиды, позволит проводить более качественную серологическую диагностику энзоотического лейкоза, значительно увеличив специфичность метода.

Целью данной работы являлась разработка способа иммуноферментного анализа для диагностики лейкоза крупного рогатого скота с использованием синтетических пептидов, состоящих из участков аминокислотных последовательностей антигенных эпитопов белка gp51 ВЛ КРС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объект исследования – аминокислотные последовательности белков ВЛ КРС, сыворотки крови крупного рогатого скота (n=45), для которых ранее было подтверждено наличие/отсутствие антител к возбудителю лейкоза методам РИД и ИФА [11].

Синтетический пептид. Поиск аминокислотных последовательностей белков ВЛ КРС, и биоинформационный анализ эпитопов белков вириона ВЛ КРС осуществляли с помощью ресурса «Immune Epitope Database». На основе аминокислотной последовательности белка gp51 в позиции от 131 до 163 аа. (GenBank: ABS11217.1) разработан синтетический пептид - BLVpep (N-конец NCKYSNQCGDQGSFYV-NHQILFLHLKQCHGIFTLTWEIWNC конец-С). Специфичность разработанного синтетического пептида подтверждали с использованием онлайн-утилиты BLASTp интернет-ресурса NCBI. Синтез пептида заказывали в Alpha Diagnostic Intl. Inc. (США), импортёр ООО «Русмедторг» (Россия).

Контрольные образцы. В качестве положительного контрольного образца (ПКО) и отрицательного контрольного образца (ОКО) использовали сыворотки крови КРС, для которых ранее было подтверждено наличие/отсутствие антител к возбудителю лейкоза методам РИД и ИФА, а также дополнительно было проведено исследование крови от тех же животных на наличие/отсутствие провирусной ДНК методом ПЦР [11, 12].

В качестве конъюгата антивидовых антител был использован коммерческий препарат антивидового иммунопероксидазного конъюгата против IgG крупного рогатого скота (ООО «Имрек», Россия).

Постановка иммуноферментного анализа с использованием синтетических пептидов. В испытании были использованы планшеты ВНИИ Медполимер (Россия).

1. Планшет сенсибилизировали синтетическим пептидом в концентрации 0,5 – 1,5 мкг/мл. Пептид разводили на фосфатно-солевом буфере (ФСБ) (рН 7,3) с добавлением сухого молока (0,5 %) в объеме 200 мкл на лунку и инкубировали при температуре от 2 °С до 8 °С в течение 16 ч. Содержимое лунок удаляли и отмывали один раз ФСБ (рН-7,3) с добавлением 0,5% Твин-20 (ФСБ-Т).

2. В каждую лунку планшета вносили по 200 мкл блокирующего белка (3% сухое молоко разводили на ФСБ-Т) и инкубировали при температуре 37 °С в течение 2 ч. Содержимое лунок удаляли и отмывали один раз ФСБ-Т.

3. Во все лунки сенсибилизированного планшета вносили по 50 мкл, а в лунки горизонтального ряда А по 100 мкл ФСБ (рН-7,3). Затем в лунки А1 и А8 вносили по 4 мкл отрицательного и положительного контрольного образца (разведение 1:25), соответственно. Аналогично готовили разведения исследуемых сывороток. Далее с ряда «А» по «Н» проводили титрование анализируемых образцов с разведения 1:25 до 1:3200. Планшет закрывали крышкой и инкубировали в течение 45 мин при температуре 37°С. Содержимое лунок удаляли и отмывали три раза ФСБ-Т.

4. Во все лунки планшета вносили по 100 мкл рабочее разведение антивидового

конъюгата. Планшет закрывали крышкой и инкубировали в течение 1 ч при 37°С. Содержимое лунок удаляли и отмывали три раза ФСБ-Т.

5. Во все лунки планшета вносили по 100 мкл субстратной смеси. В качестве субстратной смеси использовали тетраметилбензидин гидрохлорид (ТМБ). Планшет закрывали крышкой и инкубировали в темномместе при комнатной температуре (22+2°С) в течение 10 мин.

6. Реакцию останавливали добавлением в каждую лунку планшета по 50 мкл 1М серной кислоты и проводили учет результатов ИФА.

7. Учет результатов ИФА осуществляли на спектрофотометре Multiskan GO («ThermoFisher», США).

Интерпретация результатов. Анализ считается: положительным, если коэффициент отношения оптической плотности (ОП) исследуемой сыворотки к ОП отрицательного образца больше или равен 2,2; сомнительным, если коэффициент отношения ОП исследуемой сыворотки к ОП отрицательному образцу от 2,0 до 2,2; отрицательным, если коэффициент отношения ОП исследуемой сыворотки к ОП отрицательному образцу меньше 2,0.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Для разработки синтетических пептидов с помощью биоинформационного анализа нами были отобраны наиболее иммуногенные эпитопы вирусных белков gp51, gp30 и p24 ВЛ КРС. В таблице 1 представлено количество иммуногенных эпитопов основных антигенов ВЛ КРС.

По результатам биоинформационного анализа иммуногенных эпитопов ВЛ КРС было установлено, что наиболее активным является белок gp51. Таким образом для дальнейшей работы мы использовали эпитопы белка gp51 характеризующееся Т-клеточным иммунным ответом, расположенным в позиции от 131 до 163 аа. Для максимального сходства разрабатываемого пептида с нативным антигеном вируса лейкоза использовали цельную аминокислотную последовательность – N -конец DQGSFYVNHQILFLHLKQCH-GIFTLTWEIW конец-С, соответствующую указанной выше иммуногенной области.

Представленная аминокислотная последовательность была проанализирована на пептидном калькуляторе, для определения её физических характеристик. По результатам пептидной калькуляции установлено, что анализируемая последовательность характеризуется нулевой изоэлектрической точкой при pH=6,34, при нейтральной pH заряд белковой молекулы составляет минус 0,8 ед., молекулярная масса составила 3,68 кДа, коэффициент экстинкции равен 12660 $M^{-1}cm^{-1}$. Для улучшения физических свойств пептида, обозначенного нами BLVpep, была произведена его модификация с добавлением гидрофильных и имеющих положительный заряд аминокислот, таких как аспарагин (N), цистеин (C), лизин (K), тирозин (Y), серин (S), глутамин (Q), глицин (G). В результате изменения пептид приобрёл следующую аминокислотную последовательность: N-конец NCKYSNQCGDQGS-FYVNHQILFLHLKQCHGIFTLTWEIWNC конец-С. Со следующими физические показатели: нулевой изоэлектрической точкой при pH=7,01, при нейтральной pH заряд белковой молекулы составляет 0 ед., молекулярная масса составила 4,89 кДа, коэффициент экстинкции равен 13940 $M^{-1}cm^{-1}$.

Таблица 1 – Иммуногенные эпитопы белков вируса лейкоза крупного рогатого скота

Антиген	Количество иммуногенных эпитопов	Иммунный ответ	
		Т-клеточный	В-клеточный
gp51	71	45	118
gp30	14	15	9
p24	53	5	48

По результатам BLASTp-анализа установлено, что аминокислотная последовательность синтетического пептида BLVpep является специфичной только для возбудителя лейкоза крупного рогатого скота.

Следующим этапом настоящей работы являлась разработка способа иммуноферментного анализа, которая включала в себя определение концентрации вирусного антигена для сенсибилизации планшета, реакционного буфера взаимодействия «антиген-антитело», определения минимального титра антител к возбудителю, проверку диагностической чувствительности.

Определение концентрации вирусного антигена. Для определения оптимальной концентрации вирусного антигена при сенсибилизации планшета были использованы следующие разведения синтетического пептида BLVpep – 0,5; 1,0 и 1,5 мкг/мл. В результате анализа установлено, что наиболее оптимальная концентрация сенсибилизируемого вирусного антигена составляет 1,0 мкг/мл. При данной концентрации антигена ОП ПКО составила 1,89, ОКО – 0,513, а коэффициент отношения ОП отрицательного и контрольного образцов был равным 3,68 ед. Сравнивая полученные результаты и данные других авторов, занимавшихся разработкой серологических тестов на основе рекомбинантного gp51 белка вируса лейкоза [13], рекомбинантного p24 антигена [6], можно сделать заключение, что предложенный нами синтетический пептид обладает высокой антигенной активностью и пригоден для дальнейшей разработки способа иммуноферментного анализа. Зависимость средней ОП контрольных образцов от концентрации синтетического пептида представлена на рисунке 1.

Применение блокирующего раствора. Наиболее широко в качестве блокирующего раствора используются инертные белки такие как бычий сывороточный альбумин, желатин, казеин, а также сыворотка любого вида животного, обезжиренное сухое молоко [6]. Используемый белок должен связаться теми участками поверхности лунки, которые не заняты антигеном, чтоб на них в ходе анализа не сорбировались белки из образца и ферментный конъюгат, поскольку это может привести к появлению неспецифических взаимодействий. К тому же блокирующий раствор добавляют в растворы, которые используют для разведения образца и ферментного конъюгата. В данной работе в качестве блокирующего раствора использовался раствор обезжиренного сухого молока. При использовании 3% раствора сухого молока в качестве блокирующего раствора максимальные показатели ОП ОКО составили 0,549, а ПКО – 1,934. Тогда как ОП ОКО без блокировки достигли 0,937, а ПКО – 3,098. Результаты проведенного эксперимента показали, что наиболее оптимальным вариантом ИФА является вариант с использованием блокирующего раствора.

Подбор буфера взаимодействия «антиген-антитело». При подборе реакционного буфера взаимодействия «антиген-антитело» были испытаны следующие буферные растворы: 0,01М ФСБ с 0,05% твин 20 (pH 7,3) (ФСБ-Т) и 0,01М трис HCl. По результатам двукратных разведений ПКО и ОКО, установили, что наиболее оптимальным является ФСБ-Т (pH 7,3). При использовании данного буфера отмечалось более высокое значение коэффициента отношения значений ОП ПКО к ОКО, чем при использовании 0,01 М трис HCl. Кроме того, при применении 0,01 М трис HCl наблюдаются повышенные фоновые значения, которые находятся в диапазоне от 1,474 до 2,564 в зависимости от разведения сыворотки крови КРС.

Определение минимального титра антител к возбудителю лейкоза. Для определения минимального титра противовирусных антител к ВЛ КРС в исследуемых пробах было проанализировано шесть положительных сывороток крови крупного рогатого скота, в трех повторах. Положительный статус данных образцов был подтвержден ранее методами РИД и ИФА [11].

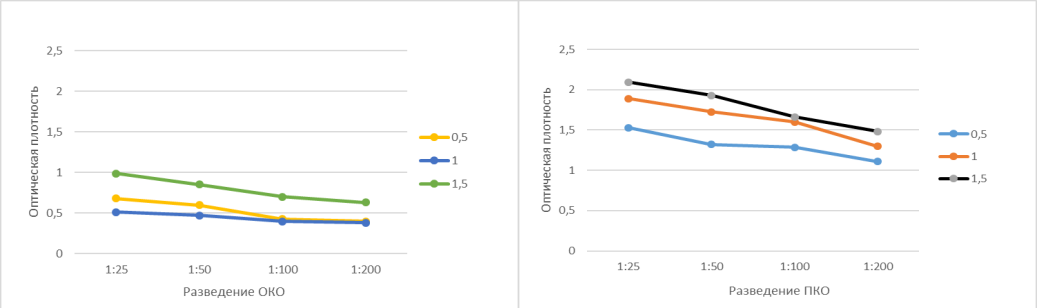


Рисунок 1 – Антигенная активность синтетического пептида в непрямом ИФА с контрольными образцами.

Таблица 2 – Определение минимального титра антител к возбудителю лейкоза крупного рогатого скота при использовании разрабатываемого способа ИФА

Разведение	Сыворотки крови КРС M ± SD	ОКО M ± SD	Коэффициент отношения значения оптической плотности образцов к ОКО
1:25	1,35±0,19	0,182±002	7,4
1:50	1,07±0,14	0,138±002	7.7
1:100	0,9±0,2	0,105±0,01	8,5
1:200	0,68±0,19	0,089±0,04	7,6
1:400	0,53±0,17	0,074±0,04	7,1
1:800	0,41±0,19	0,066±0,01	6,2
1:1600	0,2±0,11	0,058±0,03	3,4
1:3200	0,09±0,05	0,052±0,02	1,7

При определении анализируемого показателя для разрабатываемого способа ИФА, каждый образец был раститрован, начиная с 1:25 и заканчивая разведением 1:3200. Результаты анализа представлены в таблице 2.

В результате эксперимента установлено, что минимальный титр антител к ВЛ КРС, выявляемый в исследуемых сыворотках крови с помощью ИФА, составляет 1:1600. Критерием того, что исследуемый образец считался положительным, являлся коэффициент отношения значений ОП исследуемого образца к ОКО равное или больше 2,2.

Подбор разведения антивидового пероксидазного конъюгата. Для подбора разведения антивидового пероксидазного конъюгата были испытаны следующие концентрации: 1:10000, 1:20000; 1:40000; 1:60000; 1:80000. Наиболее оптимальным разведением конъюгата при постановке ИФА по обнаружению антител к ВЛ КРС является 1:40000. При применении данного титра отмечалось более высокое значение коэффициента отношения значений ОП положительных и отрицательных образцов при всех разведениях сывороток от 1:25 до 1:200.

Проверка диагностической чувствительности. Определение чувствительности складывается из показателей аналитической и диагностической чувствительности. Если на вопрос о аналитической чувствительности ответ вытекает из показателей максимально работоспособного разведения анализируемого образца, тогда как диагностическая –выражающийся в количестве результатов, совпадающих с аналогичным (зарегистрированным) те-

стом. В нашем случае для определения диагностической чувствительности представленного диагностикума исследовали 45 проб сывороток крови КРС (20 – отрицательных, 25 – положительных).

По результатам исследования 45 сывороток крови чувствительность разработанного способа на основе синтетического пептида составила 100%. В качестве теста для сопоставления результатов применяли «Набор для выявления антител к вирусу лейкоза крупного рогатого скота в сыворотке крови и молоке иммуноферментным методом» (ФГУП «Курская биофабрика», Россия).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате анализа иммуногенных эпитопов gp51 ВЛ КРС выполнен дизайн синтетического пептида (NCKYSNQCGDQGSFYVNHQILFLHLK QCHGIFTLTWEIWNC) для определения антител к возбудителю лейкоза крупного рогатого скота. Разработанный пептид характеризовался оптимальными физико-химическими показателями (растворимость, расчётные значения pH и изоэлектрической точки молекулы). На основе применения созданного синтетического пептида в качестве антигенной составляющей разработан способ непрямого иммуноферментного анализа для обнаружения антител к ВЛ КРС. Для разработанного способа отработаны основные параметры постановки. В частности, определена оптимальная концентрация синтетического пептида для сенсибилизации планшета - 1,0 мкг/мл, антивидового пероксидазного конъюгата – 1:40000, блокирующего раствора – 3,0% обезжиренное сухое молоко, подобран реакционный буфер для взаимодействия «антиген-антитело» - ФСБ-Т (pH 7,3), установлен минимальный титр антител к ВЛ КРС, выявляемый в сыворотках крови - 1:1600. Разрабатываемый способ ИФА с использованием синтетического пептида обладает высокой чувствительностью и может найти широкое применение в ветеринарной практике для диагностики вируса лейкоза.

THE USE OF A SYNTHETIC PEPTIDE BASED ON THE IMMUNOGENIC EPITOPE GP51 FOR SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF BOVINE LEUKEMIA VIRUS

Usoltsev K.V. – Candidate of Veterinary Sciences, Leading Researcher (ORCID 0000 -0001-5279-9836), **Gorbunova M.E. *** – Junior Researcher (ORCID 0000-0002-0707 -2117), **Shangaraev R.I.** – Candidate of Veterinary Sciences, Researcher, (ORCID 0000-0003-3689-1442), **Zainullin L.I.** – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher (ORCID0000-0002-3086-4921), **Khaertynov K.S**. –Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher (ORCID 0000 -0003-4764-560X), **Osyanin K.A.** – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher (ORCID 0000-0003-2763-8605), **Khammadov N.I.** – Candidate of Biological Sciences,Leading Researcher. (ORCID 0000 -0001-5669-1486).

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

* maria.metax@bk.ru

ABSTRACT

Diagnosis of leukemia remains one of the key problems in carrying out recreational activities in farms that are disadvantaged by this disease. In the Russian Federation, various methods are used to identify the causative agent of leukemia, including serological methods, one of which is enzyme immunoassay (ELISA). The principle of the indirect variant of ELISA is to identify a complex formed by an antigen immobilized on the surface of the wells of a polystyrene tablet and specific antibodies contained in blood serum samples or cattle milk. The present work is devoted to the study of the possibility of using a synthetic peptide, which is an amino acid sequence of epitopes of the gp51 protein of the leukemia virus, as an antigen for ELISA in the indication of the bovine leukemia virus. To develop the ELISA method, we designed and synthesized the antigen – synthetic peptide BLVPEP (NCKYSNQCGDQGSFYVNHQILFLHLK QCHGIFTLTWEIWNC). In order to best sensitize this peptide, the main parameters of

the ELISA formulation were worked out. In particular, the optimal concentration of the peptide for sensitization of the tablet was determined - 1.0 micrograms/ml, blocking solution – 3% solution of skimmed milk powder, anti–species peroxidase conjugate - 1:40000, the reaction buffer of the interaction "antigen-antibody" - FSB-T (pH 7.3) was selected, the minimum titer of antibodies to the pathogen, detectable in the blood sera of cows with leukemia – 1:1600. The ELISA method presented in this paper can be used as a basis for creating a test system for detecting the causative agent of bovine leukemia and find wide application in veterinary practice for serological diagnostics.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Захарова, Ю. Н. Оценка лабораторных методов диагностики лейкоза КРС и анализ экономического ущерба / Ю. Н. Захарова, О. В. Ланец // Научный диалог: Молодой ученый : Сборник научных трудов по материалам III международной научной конференции, Санкт-Петербург, 22 января 2017 года. – Санкт-Петербург: Центр Научных Конференций Международной Научно-Исследовательской Федерации "Общественная наука", 2017. – С. 50-52. – doi 10.18411/spc-22-01-2017-2-11.

2. Агольцев, В. А. Сравнительная диагностическая оценка серологического и молекулярно-генетического методов лабораторных исследований на лейкоз крупного рогатого скота / В. А. Агольцов, Е. С. Красникова, А. А. Щербаков [и др.] // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2012. – № 4 (90). – С. 56-59.

3. Эпизоотическая ситуация в Российской Федерации 2022 год. ФГБУ ВНИИЗЖ АИЦ Управления ветнадзора г. Владимир. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: URL: – https://fsvps.gov.ru/sites/default/files/files/iac/iac_epizooticheskaya_situaciya_v_rf_2022_god.pdf, свободный. – (дата обращения: 2.08.2023).

4. Шангараев, Р. И. Мониторинг эпизоотической ситуации лейкоза крупного рогатого скота в Республике Татарстан с применением молекулярно-генетических и серологических методов диагностики / Р. И. Шангараев, М. Е. Горбунова, Р. Ф. Сафина [и др.] // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2023. – № 1(219). – С. 58-64. – doi 10.53083/1996-4277-2023-219-1-58-64.

5. Донник, И. М. Лейкоз крупного рогатого скота - диагностика, оздоровление, антропозоонозный потенциал (история вопроса) (обзор) / И. М. Донник, М. И. Гулюкин, В. А. Бусол [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2021. – Т. 56, № 2. – С. 230-244. – doi 10.15389/agrobiology.2021.2.230rus.

6. Мукантаев, К. Н. Современные аспекты серологической диагностики энзоотического лейкоза крупного рогатого скота / К. Н. Мукантаев, К. К. Муканов, А. В. Шустов [и др.] // Биотехнология. Теорияипрактика. – 2012. – № 3. – С. 3-15.

7. Meas, S. Seroprevalence and molecular evidence for the presence of bovine immunodeficiency virus in Brazilian cattle / S. Meas, F. J. Ruas, T. Usui [et al.] // Japanese Journal of Veterinary Research. – 2002 – Vol. 50, №1. – P. 9–16

8. Усольцев, К. В.Изучение возможности использования синтетических пептидов для обнаружения присутствия вирионов возбудителя энзоотического лейкоза в организме человека и животных / К. В. Усольцев, Р. Ф. Сафина, М. Е. Горбунова [и др.] // Физико-химическая биология как основа современной медицины : тезисы докладов участников Международной научной конференции, посвященной 75-летию со дня рождения профессора Е. В. Барковского, Минск, 21 мая 2021 года / Министерство здравоохранения Республики Беларусь; Белорусский государственный медицинский университет. – Минск: Белорусский государственный медицинский университет, 2021. – С. 308-309.

9. Bai, L. Antigenicity of subregions of recombinant bovine leukemia virus (BLV) glycoprotein gp51 for antibody detection. / L. Bai, M. Soya, M. Ichikawa //J Virol Methods. 2023. – 311:114644. doi: 10.1016/j.jviromet.2022.114644.

10. Suzuki, A. Phylogenetic Analysis of South African Bovine Leukaemia Virus (BLV) Isolates / A. Suzuki, R. Chapman, N. Douglas s[et al.] // Viruses. – 2020. – Vol. 8. – P. 898.
11. Gorbunova, M. E. A new approach to the diagnosis of enzootic leukosis by genetic markers of bovine leukemia virus / M. E. Gorbunova, R. F. Safina, K. V. Usoltcev [et al.] // Biointerface Research in Applied Chemistry. – 2022. – Vol. 12, No. 4. – P. 4448-4462. doi 10.33263/ BRIAC124.44484462.
12. Горбунова, М. Е. Разработка способа экспресс диагностики лейкоза крупного рогатого скота, основанного на обнаружении гена нуклеокапсидного белка p24 методом ПЦР в режиме реального времени / М. Е. Горбунова // Ветеринарный врач. 2016. – № 6. – С. 3-7.
13. Giuseppe, A. D. Expression of the Bovine Leukemia Virus Envelope Glycoprotein (gp51) by Recombinant Baculovirus and Its Use in an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay /A. D. Giuseppe, F. Feliziani, D. Rutili, G. M. De Mia / Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. – 2004. – V. 11. - №1. – P.147–151.

REFERENCES

1. Zakharova, Yu. N., Lanets O.V. Evaluation of laboratory methods for diagnosing cattle leukemia and analysis of economic damage / Yu. N. Zakharova, O. V. Lanets // In the collection: Scientific dialogue: A young scientist. Collection of scientific papers based on the materials of the III International Scientific Conference. 2017:50-52. – doi 10.18411/spc-22-01-2017-2-11 (In Russ.)
2. Agoltsev, V. A. Comparative diagnostic evaluation of serological and molecular genetic methods of laboratory tests for bovine leukemia / V. A. Agoltsov, E. S. Krasnikova, A. A. Shcherbakov [et al.] // Bulletin of the Altai State Agrarian University. 2012:4 (90):56-59 (In Russ.)
3. Epizootic situation in the Russian Federation 2022. FSBI VNIIZH AIC of the Veterinary Supervision Department of Vladimir. [electronic resource]. – Access mode: URL: – https://fsvps.gov.ru/sites/default/files/files/iac/
iac_epizooticheskaya_situaciya_v_rf_2022_god.pdf free. – (date of application: 2.08.2023).
4. Shangaraev, R. I. Monitoring of the epizootic situation of bovine leukemia in the Republic of Tatarstan using molecular genetics and serological diagnostic methods / R. I. Shangaraev, M. E. Gorbunova, R. F. Safina [et al.] // Bulletin of the Altai State Agrarian University. 2023:1(219):58-64. – doi 10.53083/1996-4277-2023-219-1-58-64 (In Russ.)
5. Donnik, I. M. Bovine leukemia - diagnostics, rehabilitation, anthropozoon potential (background) (review) / I. M. Donnik, M. I. Gulyukin, V. A. Busol [et al.] // Agricultural Biology. 2021:56(2):230-244. – doi 10.15389/agrobiology.2021.2.230rus (In Russ.)
6. Mukantaev, K. N. Modern aspects of serological diagnostics of enzootic leukemia of cattle / K. N. Mukantaev, K. K. Mukanov, A.V. Shustov [et al.] // Biotechnology. Theory and practice. 2012:3:3-15 (In Russ.)
7. Meas, S. Seroprevalence and molecular evidence for the presence of bovine immunodeficiency virus in Brazilian cattle / S. Meas, F. J. Ruas, T. Usui [et al.] // Japanese Journal of Veterinary Research. 2002:50 (1):9–16.
8. Usoltsev, K. V.Studying the possibility of using synthetic peptides to detect the presence of virions of the causative agent of enzootic leukemia in humans and animals / K. V. Usoltsev, R. F. Safina, M. E. Gorbunova [et al.] // Physico-chemical biology as the basis of modern medicine : abstracts of reports of participants of the International Scientific Conference dedicated to the 75th anniversary of the Birthday of Professor E. V. Barkovsky, Minsk, May 21, 2021 / Ministry of Health of the Republic of Belarus; Belarusian State Medical University. – Minsk: Belarusian State Medical University, 2021:308-309.
9. Bai, L. Antigenicity of subregions of recombinant bovine leukemia virus (BLV) glycoprotein gp51 for antibody detection. / L. Bai, M. Soya, M. Ichikawa [et al.] // J

Virol Methods. 2023:311:114644. – doi: 10.1016/j.jviromet.2022.114644.
10. Suzuki, A. Phylogenetic Analysis of South African Bovine Leukaemia Virus (BLV) Isolates / A. Suzuki, R. Chapman, N. Douglas [et al.] // Viruses. 2020:8:898.
11. Gorbunova, M. E. Development of a method for rapid diagnosis of bovine leukemia based on the detection of the p24 nucleocapsid protein gene by real-time PCR / M. E Gorbunova // Veterinarian. 2016:6:3-7 (In Russ.)
12. Gorbunova, M. E. A new approach to the diagnosis of enzootic leukosis by genetic markers of bovine leukemia virus / M. E. Gorbunova, R. F. Safina, K. V. Usoltcev [et al.] // Biointerface Research in Applied Chemistry. – 2022:12(4):4448-4462. – doi 10.33263/BRIAC124.44484462.
13. Giuseppe, A. D. Expression of the Bovine Leukemia Virus Envelope Glycoprotein (gp51) by Recombinant Baculovirus and Its Use in an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay /A. D. Giuseppe, F. Feliziani, D. Rutili, G. M. De Mia / Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. 2004:11(1):147–151.

УДК: 619:616.988.27:636.4
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.22

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОТОКОЛА СБОРКИ РЕКОМБИНАНТНЫХ АДЕНОАССОЦИИРОВАННЫХ ВИРУСОВ 2 СЕРОТИПА ДЛЯ ДОСТАВКИ ГЕНОВ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ В КЛЕТКИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Галеева А.Г. [1,2,3] – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр., зав. лабораторией вирусных антропозоонозов (ORCID: 0000-0003-2650-6459); **Ефимова М.А.**[1,2*] – д-р биол. наук, вед. науч. сотрудник (ORCID: 0000-0001-8786-1310); **Закирова Е.Ю.** [3] – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник (ORCID: 0000-0001-6750-640X); **Хаммадов Н.И.** [1,2] – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник (ORCID: 0000-0001-5669-1486); **Хисамутдинов А.Г.**[4] – начальник; **Гарипов Л.Н.** [5] – первый заместитель министра; **Мингалеев Д.Н.** [2] – врио директора, д-р ветеринар. наук, доц. (ORCID: 0000-0001-7217-4083); **Равилов Р.Х.** [1] – д-р ветеринар. наук, проф. (ORCID: 0000-0001-7210-7470).

[1]ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана»
[2]ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»
[3]ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»
[4]Главное управление ветеринарии Кабинета Министров Республики Татарстан
[5]Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Татарстан

*marina-2004r@mail.ru

Ключевые слова: *африканская чума свиней, вирус-векторная вакцина, аденоассоциированный вирус, трансдукция, экспрессия генов*

Keywords: *african swine fever, virally vectored vaccine, adeno-associated virus, transduction, gene expression*

Финансирование: *Материалы подготовлены в рамках гранта Российского научного фонда № 22-76-00013 «Оценка эффективности векторной системы на основе аденоассоциированного вируса для доставки генов, кодирующих иммунодоминантные белки вируса африканской чумы свиней, в клетки млекопитающих» (2022-2024 гг.)*

Поступила: 18.12.2023 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Африканская чума свиней (АЧС) – высококонтагиозная вирусная болезнь представителей семейства *Suidae*, смертность в первичных очагах которой достигает 100 %. До сегодняшнего дня средства специфической профилактики АЧС не разработаны. Несмотря на то, что исследователями предложены различные методы создания кандидатных вакцин против АЧС, до сих пор актуален вопрос разработки альтернативных антигенных вариантов, обладающих низкой реактогенностью и высокой иммуногенностью. Известно, что на продук-

цию рекомбинантных аденоассоциированных вирусов – потенциальных средств доставки целевых генов вируса АЧС в клетки млекопитающих – влияет множество факторов, в частности, клеточная линия, система экспрессии, условия культивирования клеток после трансфекции и качество исходных плазмидных ДНК. В настоящей работе изложены результаты оптимизации протокола сборки рекомбинантных AAV2, несущих ген мажорного капсидного белка *B646L* вируса АЧС в качестве модельного карго. В ходе исследований установлено, что применяемый протокол позволяет достичь истинного титра вируса (2,45±0,17) × 10^7 вирусных частиц на мкл, при этом на долю полноценно собранных вирусных капсидов приходится до (79,3±2,3) % всех геномных копий. При оценке потенциального цитопатогенного действия рекомбинантных AAV2 на целевые клетки (SPEV, МСК свиней) было выявлено, что высокие MOI (до 10000 вирусных частиц на клетку) не приводят к увеличению доли апоптотических клеток. Подтверждена функциональность разработанной конструкции на основе AAV2: в лизатах трансдуцированных клеток обнаруживался зрелый белок p72 с молекулярной массой 73 кДа, специфически реагирующий в вестерн-блоте с гипериммунной сывороткой свиньи. Полученные нами данные в совокупности подтверждают потенциал AAV2 как инструмента доставки генов вируса АЧС в клетки свиней, что делает его многообещающей основой для конструирования кандидатных вакцин.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Африканская чума свиней (АЧС) – высококонтагиозная вирусная болезнь представителей семейства *Suidae*, смертность в первичных очагах которой достигает 100 %. Широкое распространение и колоссальные экономические убытки от АЧС оказали влияние на развитие животноводства большинства стран Африки и Европы, а с 2007 года – и Российской Федерации и ряда других стран [1, 2]. По сей день эпизоотическая ситуация по АЧС в России является напряженной: распространение инфекции в регионах страны стало значительным препятствием для развития свиноводческой отрасли, что обусловлено миллиардными убытками вследствие падежа и убоя животных, радикальной ликвидации инфекции, запретом на экспорт свиноводческой продукции. Распространение АЧС с захватом все новых территорий подтверждает её опасность как трансграничного заболевания, принявшего масштабы панзоотии [3, 4]. До сегодняшнего дня средства специфической профилактики АЧС не разработаны. Несмотря на то, что исследователями предложены различные методы создания кандидатных вакцин против АЧС, до сих пор актуален вопрос разработки альтернативных антигенных вариантов, обладающих низкой реактогенностью и высокой иммуногенностью [5, 6].

Ранее нами сообщалось, что перспективным направлением исследования является разработка безопасных и эффективных векторов доставки генов, кодирующих иммунодоминантные белки вируса АЧС, на основе аденоассоциированного вируса 2 серотипа (AAV2) [7]. AAV, принадлежащий к роду *Dependoparvovirus* семейства *Parvoviridae*, изначально был обнаружен как контаминант лабораторных препаратов аденовирусов, однако в настоящее время аденоассоциированный механизм доставки генетического материала широко используется в молекулярной медицине [8]. Для его реализации геном AAV распределяют по векторизованным фрагментам ДНК, функционально дополняющим друг друга, но разобщенным физически (транскомплементация) [9]. AAV обладают рядом преимуществ для применения *in vivo*: они непатогенны для человека и животных, и реверсия вируса к дикому типу не несет рисков инфицирования; AAV не интегрируется в геном организма-хозяина, что является важнейшим фактором безопасности; вирионы AAV за счет своего размера (20-22 нм) эффективнее проникают в ткани и характеризуются широким тропизмом, а в отдельных слу-

чаях способны преодолеть гематоэнцефалический барьер [10].

Штаммы и плазмиды. Для наработки рекомбинантных ДНК использовали штамм *E. coli* DH5α (Thermo Scientific, США), для сборки AAV2 – плазмиды pAAV-MCS, содержащую трансген и его регуляторные элементы, фланкированные ITR, pAAV-RC, содержащую гены *rep* и *cap*, и pHelper, содержащую гены *e2a, e4* и *va*, необходимые для продукции инфекционных частиц («Stratagene», США).

Клеточные линии. В работе использовали пакующую клеточную линию AAV293 (ATCC CRL-1573) – производную линии клеток эмбриональных почек человека HEK293, стабильно экспрессирующую ген *E1* аденовируса, а также линию HEK293 («БиолоТ», Россия), линию клеток эмбриональных почек свиньи SPEV («БиолоТ», Россия) и линию мезенхимальных стволовых клеток свиньи (МСК) (ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет).

Создание генетической конструкции на основе AAV. Фрагмент последовательности гена *B646L* эпизоотически значимого изолята вируса АЧС Georgia 2007/1 (Genbank ID NC_044959.2) был *in silico* оптимизирован по кодонам, при этом в качестве оптимальных кодонов использовали наиболее часто встречающиеся кодоны организма-реципиента – свиньи. Синтезированный на аутсорсинге (ЗАО «Евроген») фрагмент, содержащий трансген и его регуляторные элементы, фланкированные инвертированными концевыми повторами (ITR), клонировали в плазмиду pAAV-MCS в 2 этапа: первоначально 3`-концевой фрагмент, ограниченный сайтами BsrGI и BamHI, промежуточно клонировали в целевую плазмиду (промежуточный клон RZ3-3), вторым этапом в полученный вектор pAAV-MCS/RZ1-3 был клонирован 5`-концевой фрагмент гена, ограниченный EcoRI – BsrGI. Конструкцию нарабатывали в химически компетентных клетках *E. coli* DH5α, трансформированных методом теплового шока, с селекцией по гену устойчивости к ампициллину. Плазмидную ДНК выделяли при помощи коммерческого набора «Midi Prep» (ЗАО «Евроген»), эффективность очистки подтверждали электрофоретически.

Сборка рекомбинантных AAV2. Сборку вирусных частиц осуществляли на клеточной линии AAV293. Клетки культивировали в культуральных блюдцах (10 $см^2$) на среде DMEM с добавлением 10% бычьей эмбриональной сыворотки (HyClone, Австралия), L-глутамина и пенициллина-стрептомицина («Панэко», Россия) до 70% плотности монослоя, после чего осуществляли кальций-фосфатную котрансфекцию тремя плазмидами (с геном интереса, оболочечной и упаковочной) из расчета по 10 мкг каждой на 1 блюдце. Через 6 ч инкубации при плюс 37 ºС в атмосфере 5% CO_2 среду в блюдцах заменяли на поддерживающую и инкубировали до 72 ч. Дополнительно осуществляли сборку pAAB2, содержащих ген дальне-красного белка TurboFP635 (ЗАО «Евроген») для флуоресцентного контроля трансдукции клеток восприимчивых животных. По истечении срока инкубации среду собирали, клетки снимали механически и подвергали трехкратному криолизу при минус 80 ºС с последующим переосаждением. В полученных образцах определяли титр rAAV2: образцы обрабатывали бензоназой («Диаэм», Россия) из расчета 50 ед./мл и инкубировали при плюс 37 ºС в течение 30 мин для избавления от неинкапсидированной ДНК. Образцы инкубировали при плюс 95 ºС в течение 10 мин для инактивации бензоназы и разрушения вирусных капсидов.

Определение титра вируса в полимеразной цепной реакции (ПЦР). Определение титра AAV в образцах, предварительно обработанных бензоназой, проводили методом ПЦР-РВ с использованием праймеров и зонда на ITR [13]. Для определения количества копий ДНК в образцах готовили разведения стандартной ITR -плазмиды с содержанием 10^2-10^8 копий гена, на основании показателей которых строили калибровочный график для определения количества копий ДНК непосред-

ственно в исследуемых образцах. Состав реакционной смеси для ПЦР-амплификации был следующим (из расчета на одну пробу): 100 пМ растворы прямых и обратных праймеров – по 0,5 мкл; реакционная смесь qPCRmix-HS SYBR с интеркалирующим красителем SYBR Green I (ЗАО «Евроген», Россия) – 5 мкл; деионизированная вода – 14 мкл; раствор выделенной ДНК (матрица) – 5 мкл. Общий объём реакционной смеси составлял 25 мкл. Постановку ПЦР осуществляли на амплификаторе C1000 с оптическим блоком CFX96 («Bio-Rad», США) согласно следующей программе амплификации: (I) денатурация ДНК при 95 ºС в течение 3 минут; (II) 40 циклов, состоящих из: 15 секунд при 95 °С, 30 секунд при 57 °С, с детекцией флуоресценции по каналу FAM на каждом из циклов при 57 ºС. Учёт результатов ПЦР проводили методом электрофоретического разделения в 1% агарозном геле в буфере ТВЕ при напряжении 0,6 В/см^2 в течение 30 минут с последующим детектированием в УФ-свете после окраски бромистым этидием. В качестве стандарта при определении длин полученных ампликонов использовали маркер GeneRuler 1 kb Plus DNA Ladder («Thermo Fisher Scientific», США) с линейкой фрагментов 250-10000 п.о. Дополнительно наличие rAAV2 в образцах контролировалось белковым электрофорезом в 12,5% полиакриламидном геле (ПААГ).

Трансдукция клеток восприимчивых животных. Для определения оптимальной множественности инфицирования (MOI) и оценки цитотоксичности вирусного вектора клетки HEK293, SPEV и МСК трансдуцировали при MOI 100, 500, 1000, 10000, 50000. Через 6 ч экспозиции вируссодержащую среду заменяли поддерживающей средой и инкубировали до 72 ч. По истечении срока инкубации с клетками проводили оценку выживаемости при помощи микротетразолиевого теста (МТТ-теста). Интенсивность окраски клеток в тесте определяли спектрофотометрически при длине волны 570 нм после растворения кристаллов формазана в диметилсульфоксиде.

Анализ функциональности rAAV2. Через 72 ч после трансдукции клетки снимали механически, осаждали путем центрифугирования при 1500 rpm в течение 5 мин и отмывали от среды фосфатным буфером. Осадок ресуспендировали в 200 мкл RIPA-буфера с добавлением 2 мкл ингибитора протеиназ, инкубировали во льду 30 мин, центрифугировали при 13000 rpm в течение 30 мин. Надосадок отбирали и проводили последовательно электрофорез по Laemmli с окрашиванием по Кумасси и вестерн-блоттинг с сывороткой свиньи, гипериммунизированной вирусом АЧС (ФГБНУ «ФИЦВиМ»), и антивидовым конъюгатом («Sigma», США). Документирование гелей и нитроцеллюлозных мембран осуществляли с помощью системы «GelDoc XR+» («Bio-Rad», США) с программным обеспечением «ImageLab Software 6.0» («Bio-Rad», США).

Статистический анализ. Полученные данные были обработаны с использованием программного обеспечения «GraphPad Prism 7.0» («GraphPad Software Inc.», США) с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни либо с использованием t-критерия Стьюдента. Каждый эксперимент был проведен не менее чем в трех независимых повторностях; различия считались статистически достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Сборка рекомбинантного AAV2, содержащего ген B646L вируса АЧС. На первом этапе исследований нами перед нами стояла задача получения лабораторного образца рекомбинантного AAV. Для этого мы использовали экспрессионную плазмиду pAAV-MCS/B646L, оптимизированную по кодонам (при этом в качестве оптимальных кодонов использовали наиболее часто встречающиеся кодоны генов организма-реципиента – свиньи, что позволяет повысить эффективность экспрессии целевого гена), и осуществили ее наработку в препаративных количествах путем трансформации клеток *E. Coli* (штамм DH5α) с селекцией по гену

устойчивости к ампициллину и последующим выделением и очисткой плазмидной ДНК. Структура сконструированного экспрессионного вектора, содержащего ген *B646L* вируса АЧС, представлена на рисунке 1.

После выделения и очистки плазмидная ДНК была готова к процессу сборки рекомбинантного AAV2. Стандартные протоколы сборки AAV, как правило, подразумевают использование клеточной линии эмбриональных почек человека HEK293; в данной работе нами была использована ее производная линия – AAV293, стабильно экспрессирующая ген E1 аденовируса, необходимый для повышенной продукции инфекционных частиц AAV. В ходе инкубации после кальций-фосфатной котрансфекции клеток AAV293 экспрессионной, упаковочной и оболочечной плазмидами ежесуточно оценивалась динамика увеличения первоначального (детектируемого в культуральной жидкости) и истинного (детектируемого после обработки бензоназой) титров рекомбинантного AAV2 методом количественной ПЦР (рисунок 2).

Из данных диаграммы видно, что продукция вирусных частиц начинается непосредственно в первые часы после трансфекции, первоначальный титр существенно возрастает на вторые сутки и к окончанию инкубации достигает (3,1±0,25) × 107 вирусных частиц (по ITR) на мкл культуральной жидкости. Истинный титр, рассчитанный по детекции исключительно инкапсидированных ITR, достигает (2,45±0,17) × 107 вирусных частиц на мкл, из чего следует, что на долю полноценно собранных вирусных капсидов приходится до (79,3±2,3) % всех геномных копий. Прочие детектируемые ITR, вероятно, являются элементами дефектных частиц, однако их количество является приемлемым для сборки AAV на монослойной культуре в лабораторных условиях.

После механического снятия трансфецированных клеток, трехкратного криолиза при минус 80 ºС и переосаждения истинный титр AAV увеличивался в среднем на (11,2±0,71) %. Наличие целевого гена B646L было подтверждено методом ПЦР во всех очищенных образцах рекомбинантного AAV. Полученные данные говорят о том, что применяемая нами методика сборки и очистки AAV позволяет получить вируссодержащий материал с достаточно высокой (не менее 2,4 × 107 г.к./мкл) концентрацией вирусных частиц.

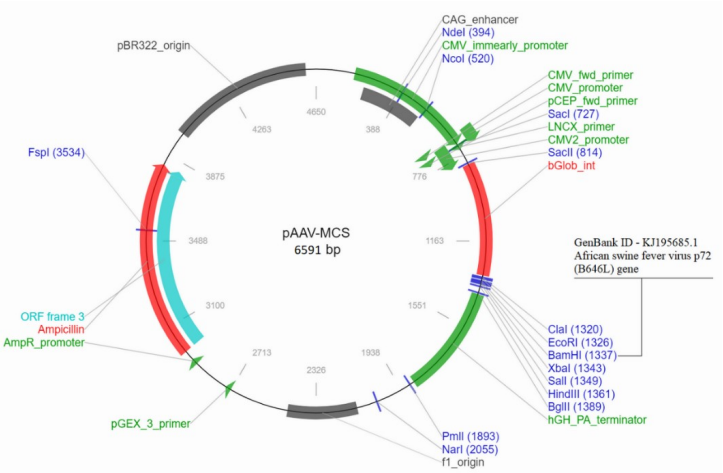


Рисунок 1 – Структура экспрессионного вектора pAAV-MCS/B646L.

Оценка цитопатогенного действия rAAV2 на клетки млекопитающих. Одним из главных требований, предъявляемым к кандидатным вирусным векторам, является отсутствие цитопатогенного действия при трансдукции целевых клеток, – соблюдение этого условия позволит в дальнейшем увеличивать векторную нагрузку на организм при необходимости введения в схему иммунизации нескольких конструкций, содержащих гены, кодирующие, например, другие значимые иммунодоминантные белки. Считается, что большинство серотипов AAV не оказывает цитопатогенного действия, однако оценка данного показателя in vitro является обязательной для дальнейшего безопасного проведения испытаний in vivo.

В качестве целевой клеточной линии нами были выбраны эпителиоподобные клетки почки эмбриона свиньи (SPEV) и почки эмбриона человека (HEK293), что обусловлено нефротропизмом, свойственным AAV2, а также МСК свиней. Результаты оценки цитопатогенного действия AAV2, содержащего ген B646L вируса АЧС, на клеточные линии через 72 часа после трансдукции при разных значениях MOI, представлены в таблице 1.

Из данных таблицы видно, что даже при высоких MOI (свыше 1000 вирусных частиц на клетку) суммарная доля апоптотических клеток в популяции не превышает (4,7±0,3) %, что сопоставимо с отрицательным контролем. При оценке цитопатического действия на моделях других клеточных линий статистически значимых изменений данного показателя выявлено не было. Отсутствие цитопатогенного действия при трансдукции целевых клеток рекомбинантным AAV2 подтверждает его безопасность в качестве основы для кандидатной вакцины и дает основание к увеличению векторной нагрузки в случае необходимости введения других конструкций в пул потенциальных иммуногенов.

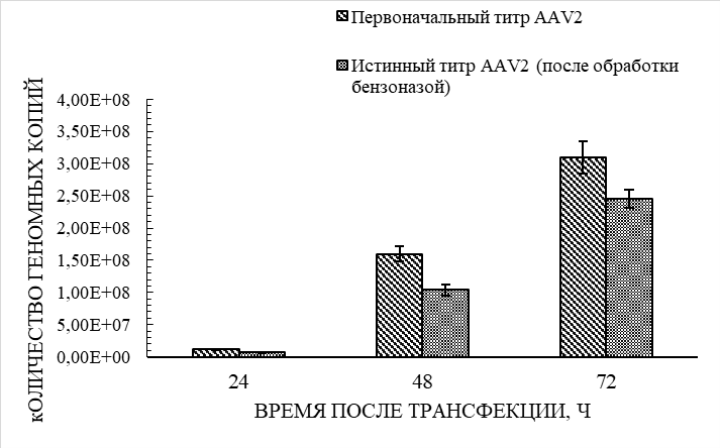


Рисунок 2 – Динамика нарастания титров AAV2 после трансфекции.

Таблица 1 – Выживаемость клеток линий HEK293, SPEV, МСК свиней после трансдукции rAAV2 при разных значениях MOI, %

MOI, геномных копий на клетку	HEK293	SPEV	МСК
100	98,2±0,3	97,8±0,5	99,1±0,4
500	97,2±0,2	96,1±0,9	98,4±0,7
1000	95,3±1,4	97,1±0,8	97,9±0,4
10000	98,1±1,1	96,1±0,4	95,8±0,7
50000	95,5±1,6	96,9±0,7	95,6±0,9

Оценка функциональности rAAV2. Основным критерием функциональности разработанных векторных конструкций, как правило, служат показатели транскрибирования генов для синтеза функциональных генных продуктов. В случае с трансдукцией клеток организма-хозяина рекомбинантным AAV2 таким показателем является наличие зрелого белка p72 – продукта целевого гена *B646L*, выполняющего свою функцию. Для оценки функциональности AAV2 трансдукцию клеток SPEV осуществляли при рекомендованной стандартными методиками MOI 2000. Наличие зрелого белка определяли электрофоретически через 72 часа после трансдукции, а также проводили вестерн-блот с сывороткой свиньи, гипериммунизированной штаммом «Georgia 2007/1» вируса АЧС. Дополнительно были оценены уровни экспрессии мРНК соответствующего гена для всех трансдуцированных клеточных линий без вспомогательного агента и в присутствии протамина сульфата (10 мкг/мл). Данные представлены на рисунке 3 и в таблице 2.

Из рисунка 3 видно, что на электрофореграмме визуализируется рекомбинантный вирусный белок p72 с молекулярной массой, соответствующей расчетной (73 кДа). Специфичность экспрессируемого белка подтверждается вестерн-блотом с сывороткой свиньи, иммунизированной цельным вирионом того же эпидемиологически значимого штамма «Georgia 2007/1», нуклеотидная последовательность которого использовалась при конструировании экспрессионного вектора pAAV-MCS/B646L, ведь генетическое разнообразие вируса АЧС по гену B646L является самым высоким в Центральной и Восточной Африке [14]. Показатели уровней экспрессии мРНК целевого гена были наиболее высокими в клетках HEK293 (до 13 млн копий на 1 мкг суммарной РНК). Уровень экспрессии мРНК в клетках SPEV был в среднем в 1,25 раз ниже ($p < 0,01$), в клетках МСК – в 3,6 раз ниже ($p < 0,005$), что согласуется с литературными данными: так, сообщается, что при трансдукции МСК человека AAV2 при MOI 1000 ее эффективность не превышает 30 %, однако показана возможность повышения этого показателя до 65 % при условии эскалации MOI до 10000 и инкубации клеток в течение 8 дней после трансдукции [15]. Проведение трансдукции в присутствии протамина сульфата – специфического антагониста гепарина – позволило повысить уровни экспрессии трансгена: для HEK293 – на (12,7±2,1) %, для клеток SPEV – на (8,5±1,8) %, для МСК статистически значимых различий выявлено не было.

Белок p72 является основным структурным компонентом вируса АЧС, занимая до 35% его массы, продуцируется на поздних стадиях инфекции, а антитела к нему способны ингибировать начальный этап репликативного цикла вируса АЧС, связанного с его прикреплением [16], что подтверждает его значимость в вирус-нейтрализации и в лабораторной диагностике АЧС. Полученные нами результаты экспрессии зрелого белка p72, обнаруживаемого в вестерн-блоте со специфичной сывороткой, демонстрируют функциональность разработанной конструкции на основе рекомбинантного AAV2, что дает основание для дальнейшего создания конструкций – вакцинных кандидатов – на вирус-векторной платформе.

Таблица 2 – Уровни экспрессии мРНК разными клеточными линиями

Клеточная линия	Количество копий целевого гена на 1 мкг суммарной РНК, млн	
	Без вспомогательного агента	В присутствии протамина сульфата (10 мкг/мл)
HEK293	12,1±0,9	13,63±0,7
SPEV	9,7±0,46	10,52±0,6
МСК свиней	3,4±0,35	3,5±0,5

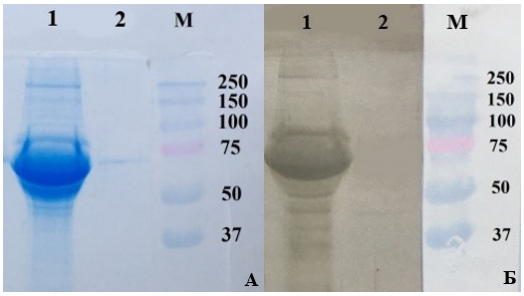


Рисунок 3 – Электрофореграмма (А) и блотограмма (Б) зрелого белка p72 вируса АЧС. Треки: 1 – лизат клеток SPEV, трансдуцированных рекомбинантным AAV2 при MOI 2000; 2 – лизат интактных клеток SPEV; M – маркер молекулярных масс «Bio-Rad Precision Plus Protein Standards Dual Color».

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В ходе исследований был сконструирован экспрессионный вектор pAAV-MCS/B646L, содержащий ген мажорного иммунодоминантного белка p72 вируса АЧС. Оптимизированы условия сборки рекомбинантного AAV2 на клеточной линии AAV293, стабильно экспрессирующей ген *E1* аденовируса и позволяющей достичь концентрации AAV2 (по детектируемым ITR) не менее (2,45±0,17) × 10^7 г.к./мкл, при этом средняя доля вирусных частиц с полноценным капсидом составляет (79,3±2,3) %. При оценке потенциального цитопатогенного действия рекомбинантных AAV2 на целевые клетки было выявлено, что высокие MOI (до 10000 вирусных частиц на клетку) не приводят к увеличению доли апоптотических клеток. Их суммарная доля в общей клеточной популяции не превышает 5 %, что сопоставимо с показателями интактных клеточных образцов. Отсутствие ЦПД свидетельствует о безопасности вирусного вектора, что позволит увеличивать векторную нагрузку при необходимости введения в схему иммунизации дополнительных конструкций, содержащих другие иммунодоминантные гены. Подтверждена функциональность разработанной конструкции на основе AAV2: через 72 часа в лизатах трансдуцированных клеток SPEV электрофоретически обнаруживался зрелый белок p72 с молекулярной массой 73 кДа. Специфичность белка подтверждалась в вестерн-блоте с сывороткой свиньи, гипериммунизированной цельным вирионом того же эпидемиологически значимого штамма вируса АЧС.

Полученные нами данные в совокупности подтверждают потенциал AAV2 как инструмента доставки генов вируса АЧС в клетки свиней, что делает его многообещающей основой для конструирования кандидатных вакцин.

OPTIMIZATION OF THE PROTOCOL FOR ASSEMBLY OF RECOMBINANT ADENO-ASSOCIATED VIRUSES OF SEROTYPE 2 FOR DELIVERY OF AFRICAN SWINE FEVER VIRUS GENES INTO MAMMALIAN CELLS

Galeeva A.G.[1,2,3] – Candidate of Veterinary Sciences, senior researcher, head of the Lab of Viral Antropozoonoses (ORCID: 0000-0003-2650-6459); **Efimova M.A.**[1,2*] – Doctor of Biological Sciences, leading researcher (ORCID: 0000-0001-8786-1310); **Zakirova E.Yu.**[3] – Candidate of Biological Sciences, leading researcher (ORCID: 0000-0001-6750-640X); **Khammadov N.I.**[1,2] – Candidate of Biological Sciences, leading researcher (ORCID: 0000-0001-5669-1486); **Khisamutdinov A.G.**[4] – chief; **Garipov L.N.**[5] – First Deputy Minister; **Mingaleev D.N.**[2] – acting director, Doctor of Veterinary Sciences, associated professor (ORCID: 0000-0001-7217-4083); **Ravilov R.K.**[1] – Doctor of Veterinary Sciences, professor (ORCID: 0000-0001-7210-7470)

[1]Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman, Kazan

[2]Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan

[3]Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan

[4]Main Directorate of Veterinary Medicine of the Cabinet of Ministers of the Republic of Tatarstan, Kazan

[5]Ministry of Agriculture and Food of the Republic of Tatarstan, Kazan

*marina-2004r@mail.ru

Financing: *Materials were prepared within the framework of the Russian Science Foundation grant No. 22-76-00013 « Evaluation of the effectiveness of a vector system based on adeno-associated virus for the delivery of genes encoding immunodominant proteins of the African swine fever virus into mammalian cells» (2022-2024).*

ABSTRACT

African swine fever (ASF) is a highly contagious viral disease of the *Suidae* family representatives, the mortality rate in primary foci of which reaches 100 %. To date, no specific means of preventing ASF have been developed. Despite the fact that researchers have proposed various methods for creating candidate vaccines against ASF, the issue of developing alternative antigenic variants with low reactogenicity and high immunogenicity is still relevant. It is known that the production of recombinant adeno-associated virus, a potential tool for delivering ASF virus target genes into mammalian cells, is influenced by many factors, in particular, the cell line, expression system, cell culture conditions after transfection, and the quality of the initial plasmid DNA. This work presents the results of optimization of the assembly protocol for recombinant AAV2 carrying the major capsid protein gene of the ASFV *B646L* as a model cargo. During the research, it was established that the protocol used allows to achieve a veritable virus titer of $(2.45 \pm 0.17) \times 10^7$ viral particles per μl, while the share of fully assembled viral capsids accounts for up to (79.3 ± 2.3) % of all genomic copies. When assessing the potential cytopathogenic effect of recombinant AAV2 on target cells (SPEV, porcine MSCs), it was found that high MOI (up to 10,000 viral particles per cell) does not lead to an increase in the proportion of apoptotic cells. The functionality of the developed AAV2-based construct was confirmed: in the lysates of transduced cells, the mature p72 protein with a molecular weight of 73 kDa was detected, specifically reacting in a western blot with hyperimmune pig serum. Our data confirm the potential of AAV2 as a tool for delivering ASF virus genes into porcine cells, which makes it a promising basis for the design of candidate vaccines.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Макаров В.В. Африканская чума свиней. Российский ветеринарный журнал. 2018; 6: 15-19. DOI: 10.32416/article_5c050abbcf8d70.94861250.

2. Груздев К.Н., Закутский Н.И., Диев В.И. Африканская чума свиней: современное состояние, эпизоотология и меры борьбы (аналитический обзор). Ветеринарный врач. 2017; 5: 3-10.

3.Алипер Т. И., Забережный А. Д., Гребенникова Т. В. Африканская чума свиней в Российской Федерации. Вопросы вирусологии. 2012; S1: 127-136.

4.Макаров В.В., Барсуков Ю.И. Эпизоотический процесс африканской чумы свиней. Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2022; 4(56): 8-14. DOI: 10.24412/2074-5036-2022-4-8-14.

5.Колбасов Д.В. Африканская чума свиней: создание вакцины актуально. Животноводство России. 2020; 7: 29-32. DOI: 10.25701/ZZR.2020.48.46.008.

6.Ефимова М.А., Галеева А.Г., Хамидуллина А.И., Равилов Р.Х. Анализ иммунодоминантных пептидов вируса африканской чумы свиней для конструирования кандидатных вакцин. Аграрная наука. 2023; 3: 40-45. DOI: 10.32634/0869-8155-2023-368-3-40-45.

7.Ravilov R.K., Rizvanov A.A., Mingaleev D.N., Galeeva A.G., Zakirova E.Yu., Shuralev E.A., Rutland C.S., Khammadov N.I., Efimova M.A. Viral Vector Vaccines Against ASF: Problems and Prospectives. Front Vet Sci. 2022; 9: 830244. DOI: 10.3389/fvets.2022.830244.

8.Wang D., Tai P.W.L., Gao G. Adeno-associated virus vector as a platform for gene therapy delivery. Nat Rev Drug Discov.

2019; 18(5): 358-378. DOI: 10.1038/s41573-019-0012-9.
9.Усман Н.Ю., Ребриков Д.В. Рекомбинантные аденоассоциированные вирусы как средство доставки генов для использования в молекулярной медицине. Вестник РГМУ. 2021; 5: 5-11. DOI: 10.24075/vrgmu.2021.051.
10.Oziolor E.M., Kumpf S.W., Qian J., Gosink M., Sheehan M., Rubitski D.M., Newman L., Whiteley L.O., Lanz T.A. Comparing molecular and computational approaches for detecting viral integration of AAV gene therapy constructs. Mol Ther Methods Clin Dev. 2023; 29: 395-405. DOI: 10.1016/j.omtm.2023.04.009.
11.Grieger J.C., Soltys S.M., Samulski R.J. Production of recombinant adeno-associated virus vectors using suspension HEK293 cells and continuous harvest of vector from the culture media for GMP FIX and FLT1 clinical vector. Mol Ther. 2016; 24(2): 287–97. DOI: 10.1038/mt.2015.187.
12.Рябова Е.И., Деркаев А.А., Есмагамбетов И.Б., Щебляков Д.В., Довгий М.А., Бырихина Д.В., Прокофьев В.В., Чемоданова И.П. Сравнение различных технологий получения рекомбинантного аденоассоциированного вируса в лабораторном масштабе. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2021; 21(4): 266–278. DOI: 10.30895/2221- 996X-2021-21-4-266-278.
13.Ravilov R., Galeeva A., Frolov G., Efimova M., Zakirova A., Rizvanov A., Hisamutdinov A., Garipov L., Mingaleev D. Efficient delivery of the immunodominant genes of African swine fever virus by adeno-associated virus serotype 2. Vet World. 2023; 12(16): 2425-2430. DOI: 10.14202/vetworld.2023.2425-2430.
14.De Villiers E.P., Gallardo C., Arias M., da Silva M., Upton C., Martin R., Bishop R.P. Phylogenomic analysis of 11 complete African swine fever virus genome sequences. Virology. 2010; 400(1):128-136. DOI: 10.1016/j.virol.2010.01.019.
15.Stender S., Murphy M., O'Brien T., Stengaard C., Ulrich-Vinther M., Søballe K., Barry F. Adeno-associated viral vector transduction of human mesenchymal stem cells. Eur Cell Mater. 2007; 13: 93-99. DOI: 10.22203/ecm.v013a10.
16.Середа А.Д., Колбасов Д.В. Белки вируса африканской чумы свиней. Научный журнал КубГАУ. 2012; 77: 21-37.

REFERENCES

1.Makarov V.V. African swine fever. Russian veterinary journal. 2018; 6:15-19. DOI: 10.32416/
article_5c050abbcf8d70.94861250. (In Russ.)
2.Gruzdev K.N., Zakutsky N.I., Diev V.I. African swine fever: current status, epizootology and control measures (analytical review). The Veterinarian. 2017; 5: 3-10. (In Russ.)
3.Aliper T.I., Zaberezhny A.D., Grebennikova T.V. African swine fever in the Russian Federation. Problems of virology. 2012; S1: 127-136. (In Russ.)
4.Makarov V.V., Barsukov Yu.I. Epizootic process of African swine fever. Current issues in veterinary biology. 2022; 4(56): 8-14. DOI: 10.24412/2074-5036-2022-4-8-14. (In Russ.)
5.Kolbasov D.V. African swine fever: the creation of a vaccine is urgent. Russian animal husbandry. 2020; 7: 29-32. DOI: 10.25701/ZZR.2020.48.46.008. (In Russ.)
6.Efimova M.A., Galeeva A.G., Khamidullina A.I., Ravilov R.Kh. Analysis of immunodominant peptides of the African swine fever virus for the design of candidate vaccines. Agrarian Science. 2023; 3: 40-45. DOI: 10.32634/0869-8155-2023-368-3-40-45. (In Russ.)
7.Ravilov R.K., Rizvanov A.A., Mingaleev D.N., Galeeva A.G., Zakirova E.Yu., Shuralev E.A., Rutland C.S., Khammadov N.I., Efimova M.A. Viral Vector Vaccines Against ASF: Problems and Prospectives. Front Vet Sci. 2022; 9: 830244. DOI: 10.3389/fvets.2022.830244.
8.Wang D., Tai P.W.L., Gao G. Adeno-associated virus vector as a platform for gene therapy delivery. Nat Rev Drug Discov. 2019; 18(5): 358-378. DOI: 10.1038/s41573-

019-0012-9.
9.Usman N.Yu., Rebrikov D.V. Recombinant adeno-associated viruses as a means of gene delivery for use in molecular medicine. Bulletin of RSMU. 2021; 5:5-11. DOI: 10.24075/vrgmu.2021.051. (In Russ.)
10.Oziolor E.M., Kumpf S.W., Qian J., Gosink M., Sheehan M., Rubitski D.M., Newman L., Whiteley L.O., Lanz T.A. Comparing molecular and computational approaches for detecting viral integration of AAV gene therapy constructs. Mol Ther Methods Clin Dev. 2023; 29: 395-405. DOI: 10.1016/j.omtm.2023.04.009.
11.Grieger J.C., Soltys S.M., Samulski R.J. Production of recombinant adeno-associated virus vectors using suspension HEK293 cells and continuous harvest of vector from the culture media for GMP FIX and FLT1 clinical vector. Mol Ther. 2016; 24(2): 287–97. DOI: 10.1038/mt.2015.187.
12.Ryabova E.I., Derkaev A.A., Esmagambetov I.B., Shcheblyakov D.V., Dovgiy M.A., Byrikhina D.V., Prokofiev V.V., Chemodanova I.P. Comparison of various technologies for producing recombinant adeno-associated virus on a laboratory scale. BIOpreparations. Prevention, diagnosis, treatment. 2021; 21(4): 266–278. DOI: 10.30895/2221-996X-2021-21-4-266-278. (In Russ.)
13.Ravilov R., Galeeva A., Frolov G., Efimova M., Zakirova A., Rizvanov A., Hisamutdinov A., Garipov L., Mingaleev D. Efficient delivery of the immunodominant genes of African swine fever virus by adeno-associated virus serotype 2. Vet World. 2023; 12(16): 2425-2430. DOI: 10.14202/vetworld.2023.2425-2430.
14.De Villiers E.P., Gallardo C., Arias M., da Silva M., Upton C., Martin R., Bishop R.P. Phylogenomic analysis of 11 complete African swine fever virus genome sequences. Virology. 2010; 400(1):128-136. DOI: 10.1016/j.virol.2010.01.019.
15.Stender S., Murphy M., O'Brien T., Stengaard C., Ulrich-Vinther M., Søballe K., Barry F. Adeno-associated viral vector transduction of human mesenchymal stem cells. Eur Cell Mater. 2007; 13: 93-99. DOI: 10.22203/ecm.v013a10.
16.Sereda A.D., Kolbasov D.V. African swine fever virus proteins. Scientific journal of KubSAU. 2012; 77: 21-37. (In Russ.)

УДК: 619:616.9:616.596-002
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.33

АНАЛИЗ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО ИНФЕКЦИОННЫМ БОЛЕЗНЯМ ПАЛЬЦЕВ И КОПЫТЕЦ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В ОТДЕЛЬНЫХ РЕГИОНАХ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Хузин Д.А. – д-р биол. наук, доцент, зав. сектором дезинфекционных средств (ORCID 0000-0002-2338-4997); **Тарасова Е.Ю.** * – канд. биол. наук, зав. лабораторией ветеринарной санитарии (ORCID 0000-0002-9056-5798); **Потехина Р.М.** – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории ветеринарной санитарии (ORCID 0000-0002-9056-5798); **Юсупов С.А.** – канд. ветеринар. наук, науч. сотр. сектора дезинфекционных средств (ORCID 0000-0002-1333-2974); **Лукина Г.Р.** – мл. науч. сотр лаборатории ветеринарной санитарии (ORCID 0009-0006-1007-3782); **Быкова П.В.** – мл. науч. сотр лаборатории ветеринарной санитарии (ORCID 0000-0003-3636-0633).

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»

* evgenechka1885@gmail.com

Ключевые слова: эпизоотология, мониторинг, санитария, крупный рогатый скот, болезни пальцев и копытец, пальцевый дерматит

Key words: epizootology, monitoring, sanitation, cattle, diseases of fingers and hooves finger, digital dermatitis

Поступила: 08.11.2023 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Массовая заболеваемость крупного рогатого скота, проявляющаяся поражением дистального отдела конечностей, является причиной значительного экономического ущерба, причиняемого животноводству Российской Федерации. В связи с этим целью исследований явился эпизоотологический анализ распространения болезней пальцев и копытец крупного рогатого скота в отдельных регионах Российской Федерации и проведение лабораторных исследований по индикации возбудителей. Клинические и эпизоотологические исследования по болезням дистального отдела конечностей проводили при выездах с целью обследования сельхозпредприятий, ортопедической диспансеризации поголовья крупного рогатого скота, сбора данных о динамике распространения этих болезней, условиях содержания, кормления и хозяйственного использования крупного рогатого скота. Ортопедическим обследованием выявляли разные клинические проявления болезней пальцев и копытец незаразной этиологии. Инфекционную этиологию болезней пальцев и копытец подтверждали лабораторными исследованиями патологического материла с постановкой биологической пробы на лабораторных животных. Анализ эпизоотической ситуации по инфекционным болезням пальцев и копытец крупного рогатого скота в 3-х сельхозпредприятиях по производству молока в республике Мордовия, Чувашской Республике и Нижегородской области, проведенный в период 2021-2022 гг., свидетельствует, что наряду с некро-

бактериозом, микст-инфекцией и болезнями конечностей незаразной этиологии широкое распространение получил пальцевый дерматит (болезнь Мортелларо), связанный с завозом скота с латентной формой этой инфекции из других сельхозпредприятий. По результатам ортопедического обследования неблагополучного поголовья и исследований проб патологического материала от больных животных определен процент пораженности скота разными формами болезней пальцев, установлены разные стадии пальцевого дерматита в ООО «Сабанчеевское» (отделение «Аловское»).

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Болезни пальцев и копытец крупного рогатого скота незаразной и инфекционной этиологии широко распространены во всех крупных и мелких сельхозпредприятиях, занимающихся молочным и мясным скотоводством [1, 2]. Экономический ущерб от болезней пальцев и копытец огромен [3-5]. Причиной хромоты крупного рогатого скота является большая группа незаразных и инфекционных болезней, в том числе пальцевый дерматит, некробактериоз и другие микст-инфекции. По официальным данным, зарубежных и отечественных исследователей, пальцевый дерматит встречается примерно в 70 %, другие инфекционные болезни (включая некробактериоз) в 15 % случаев патологий пальцев и копытец у крупного рогатого скота [6].

Широкое распространение различных клинических форм болезней пальцев и копытец обусловлено травматизмом, несбалансированными, недоброкачественными кормами, в том числе контаминированных микотоксинами [6], отсутствием плановых дезинфекций [6], ранней клинической и лабораторной диагностики этих болезней, не позволяющей проводить эффективную профилактику, своевременного оказания лечебной помощи животным, что приводит к постоянному перезаражению чрезвычайно контагиозными возбудителями пальцевого дерматита, латентного протекающего некробактериоза и микст-инфекций пальцев. В связи с этим, целью наших исследований являлся эпизоотологический анализ распространения болезней пальцев и копытец крупного рогатого скота в отдельных регионах Российской Федерации и проведение лабораторных исследований по индикации возбудителей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Анализ эпизоотической ситуации по инфекционным болезням пальцев и копытец взрослого поголовья крупного рогатого скота проводили по результатам обследования трех неблагополучных по болезням пальцев и копытец животноводческих сельхозпредприятий, расположенных в республике Мордовия, Чувашской Республике и Нижегородской области.

Клинические и эпизоотологические исследования по болезням дистального отдела конечностей проводили при выездах с целью обследования сельхозпредприятий, ортопедической диспансеризации поголовья крупного рогатого скота, сбора данных о динамике распространения этих болезней, условиях содержания, кормления и хозяйственного использования крупного рогатого скота. Ортопедическим обследованием выявляли разные клинические проявления болезней пальцев и копытец незаразной этиологии. Инфекционную этиологию болезней пальцев и копытец подтверждали лабораторными исследованиями патологического материла с постановкой биологической пробы на лабораторных животных.

Диагностику некробактериоза осуществляли согласно «Методических указаний по лабораторной диагностике некробактериоза» [9], других микст-инфекций пальцев и копытец – клиническими и лабораторными методами [10] с использованием бактериологических методов выделения эпизоотических изолятов и изучения их биологических свойств [11].

Клиническую оценку интенсивности поражения пальцевым дерматитом (болезнь Мортелларо) проводили по классификации D. Dopfer с соавторами [12],

которая заключалась в разделении течения заболевания пальцевого дерматита на пять стадий М1, М2, М3, М4 и М4.1.

Процент заболеваемости скота разными патологиями пальцев и копытец определяли также по данным «Ортопедических журналов» работы ортопедов в обследованных сельхозпредприятиях.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Анализ эпизоотической ситуации на молочно-товарных фермах (ООО «Сабанчеевское» Атяшевского района республики Мордовии, СПК (колхоз) им. Ленина Чебоксарского района Чувашской республики и СПК (колхоз) «Майданский» Пильнинского района Нижегородской области), неблагополучных по болезням пальцев и копытец, свидетельствует что больше всего хромых животных отмечается среди дойного стада и первотелок в период до и сразу после отела. При клиническом обследовании хромых животных чаще всего диагностировали следующие патологии дистального отдела конечностей: пальцевый дерматит (болезнь Мортелларо), язвы и раны мягких тканей копытец, гнойно-некротические процессы в области мякиша, венчика и свода межкопытцевой щели (некробактериоз и микст-инфекция), язву Рустерхольца, раны и язвы мягких тканей копытец, болезнь белой линии, ламинит, пододерматит, лимакс (тилома). В большинстве случаев отмечали смешанное течение этих патологий. Процент заболеваемости скота разными патологиями пальцев и копытец у коров дойного стада, размещенного в коровниках обследованных сельхозпредприятий представлен в таблице 1.

Таким образом, в обследованных сельхозпредприятиях с разной технологией молочно-товарного производства, чаще всего отмечали хромоту, вызванную заболеванием коров пальцевым дерматитом. Так, в отделении «Аловское» пальцевый дерматит установили у 50 коров (43,10 %), некробактериоз и микст-инфекция, соответственно у 2,59 % и 6,90 %, язву Рустерхольца – 6,90 %, раны и язвы мягких тканей – 5,17 %, болезнь белой линии – 6,03 %, ламинит – 9,48 %, пододерматит – 8,62 % и лимакс у 4,31 % больных. В двух других сельхозпредприятиях также отмечался высокий процент пораженности скота пальцевым дерматитом по сравнению с другими патологиями дистального отдела конечностей. В отделении «Наклычево» СПК (колхоз) им. Ленина было 35 (38,04 %) голов с пальцевым дерматитом из 92 хромых коров, а в селе Можаров Майдан в СПК (колхоз) «Майданский», где содержится 680 коров у 10 коров (28,57 %) из 35 больных. Таким образом, в обследованных сельхозпредприятиях большое количество хромых коров были поражены пальцевым дерматитом.

При клиническом и эпизоотологическом обследовании поголовья крупного рогатого скота в ООО «Сабанчеевское» установили, что основное дойное стадо размещено в 2 отделениях: «Сабанчеево» и «Аловское», содержащихся беспривязно круглый год в реконструированых в 2018-2019 годах двух помещениях на 260 коров, соединенных коридором с доильными залами «Параллель 2х12» с итальянским автоматизированным оборудованием. Доение трехразовое. Кроме того, в отделении «Аловское» содержат 400 коров и планируется завоз еще 200 гол телок. Ежегодный удой в ООО «Сабанчеевское» составляет более 7 тыс. литров на одну корову. Всего в сельхозпредприятии содержится 1976 голов крупного рогатого скота красно-пестрой породы, из них 1005 – дойное стадо. В прежние годы большую информационную поддержку сабанчеевским животноводам по лечению, уходу и воспроизводству стада оказывали специалисты из Голландии. В 2005-2006 годах в отделение «Аловское» завозили 200 голов голштинского скота из Австрии. В 2022 году в отделение завезли 194 голов телок из АФ «Новотроицкая» Старошайговского и фермерского хозяйств Ичалакского районов Республики Мордовия.

Таблица 1 – Процент заболеваемости скота разными патологиями пальцев и копытец

Показатели клинико-лабораторного обследования	Сельхозпредприятия					
	ООО «Сабанчеевское» (отделение «Аловское»)		СПК (колхоз) им. Ленина (отделение «Наклычево»)		СПК (колхоз) «Майданский» (с. Можаров Майдан)	
	голов	%	голов	%	голов	%
Дойное стадо, в т.ч. больных Количество коров в коровнике, в т.ч. хромых из них:	367 235 191 116	 64.03 60,73	424 129 291 92	 30,42 31,62	680 60 197 35	 8,82 17,77
Пальцевый дерматит	50	43,10	35	38,04	10	28,57
Некробактериоз	3	2,59	1	1,09	2	5,71
Микст инфекция	8	6,90	4	4,35	1	2,86
Язва Рустерхольца	8	6,90	28	30,43	4	11,43
Раны и язвы мягких тканей копытец	6	5,17	3	3,26	5	14,29
Болезнь белой линии	7	6,03	2	2,17	3	8,57
Ламинит	11	9,48	4	4,35	4	11,43
Пододерматит	10	8,62	-	-	3	8,57
Лимакс (тилома)	5	4,31	12	13,05	-	-
Прочие патологии	8	6,90	3	3,26	3	8,57
Итого	116	100,0	92	100,0	35	100,0

Полы в коровниках железобетонные в отдельных местах с резиновым настилом. В отделение «Аловское» уборка навоза осуществляется дельта-скрепером с цепным приводом, в отделении «Сабанчеево» бульдозером. Стены на фермах побелены известью. Подстилку из соломенной резки используют только в родильном отделении и в группе сухостоя, которую меняют ежедневно. Основным местом мацерации и травматизма коров в отделении «Аловское» является коридор на выходе их доильного зала с высоким лестничным подъемом и крутым спуском в коровник, плохо защищенный от сквозняков. Постоянно скот проводится через ножные ванны с 10 %-ным медным купоросом.

Температура воздуха в помещениях в пределах +5-8 °С, влажность воздуха 80-89 %. В животноводческих помещениях очень сыро. Моцион коров полностью отсутствует. Помещения «не отдыхают», т.к. животных содержат безвыгульно круглый год. Изолятора нет.

При ветеринарно-санитарном обследования ООО «Сабанчеевское» установлено, что большинство коров дойного стада поражены болезнью Мортелларо. Особенно тяжелая ситуация отмечается в отделение «Аловское». Причиной заболевания является заражение скота и напольных покрытий очень контагиозной ассоциацией (консорциумом) микроорганизмов, в состав которых входят бактерий рода *Treponema spp.*, *F. necrophorum*, *Streptococcus* spp., *Staphilococcus* spp., *Clostridium* spp. и др. Способствуют заболеванию высокая влажность в помещениях, наличие большого количества навозной жижи в проходах и на копытцах животных, постоянная мацерация и микротравмы кожи пальцев, неудобные стойла, не позволяющие комфортно лежать коровам, полное отсутствие моциона, низкая пятка у коров, а также неправильная об-

резка копытец, без соблюдения правил асептики и антисептики, приводящая к массовому перезаражению животных.

В виду широкого распространения пальцевого дерматита в одном из коровников отделения «Аловское», где среди 191 коров было 116 хромых животных, провели системную оценку этой болезни Процентное соотношение разных стадий болезни среди данного поголовья представлено в таблице 2.

Проведенные исследования свидетельствуют, что основным препятствием успешного проведения оздоровительных мероприятий является и постоянное заражение скота микроорганизмами, вызывающими болезнь Мортелларо. Судя по наибольшей распространенности стадий М2, М3 и М4 ветеринарные специалисты не успевают своевременно и эффективно оказывать помощь животным, о чем свидетельствует большой процент больных в стадии М3. Способствуют заражению круглогодичное безвыгульное содержание скота, отсутствие активного моциона, высокая влажность помещений, приводящая к мацерация дистального отдела конечностей, большие перепады высот при входе в доильный зал – высокие лестницы и покатый скользкий спуск, замерзающие зимой, травматизм, недостаточная дезинфекция мест прогона скота, сквозняки в тамбурах и коридорах.

В других обследованных сельхозпредприятиях также отмечали повышенную влажность, некачественную и несвоевременную уборку навоза, которая приводила к мацерации, загрязнению шерстных покровов задней части тела, размягчению копытцевого рога, нарушению целостности кожных покровов и созданию благоприятных условий для размножения и накопления большого количества сапрофитных, условно-патогенных и патогенных микроорганизмов – возбудителей некробактериоза, пальцевого дерматита и других микст-инфекций пальцев и копытец. В основном страдает дойное стадо. Пик заболеваемости дистального отдела конечностей отмечается в послеродовой период, во время раздоя и разгара лактации. Особенно тяжело заболевание протекает у первотелок и высокопродуктивных коров.

Таблица 2 – Процентное соотношение стадий пальцевого дерматита в дойном стаде отделения «Аловское»

Стадии пальцевого дерматита (болезнь Мортелларо)	Характеристика стадии	Голов	%
М0 норма	кожа пальцев без поражений	141	–
М1 ранняя стадия	небольшое, очаговое, красно-серого цвета, округлое поражение <2 см в диаметре	8	16
М2 острая стадия	ярко красное или красно-серое болезненное поражение с резким запахом более 2 см в диаметре. Часто протекает в сочетании с инфекциями белой линии, язвами подошвы, некрозом пальцев и др., инфицирующих корium	11	22
М3 стадия после лечения	безболезненные поражения, покрытые твердым коричневым/серым/ зелено-голубым/ или черным струпом в зависимости от того, чем проводили местное лечение	15	30
М4 поздняя хроническая стадия	безболезненные на ощупь поражения различных размеров, с четко очерченными границами, признаками гиперкератоза или неравномерными пролиферативными нитевидными, струпьевидными или массовыми разрастаниями коричнево-серого цвета	13	26
М4.1 хроническая рецидивирующая стадия	хроническая стадия М4 при новом поражении М1, развивающаяся в пределах периметра хронического пролиферативного поражения М4	3	6

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Анализ эпизоотической ситуации по инфекционным болезням пальцев и копытец крупного рогатого скота в 3 сельхозпредприятиях по производству молока в республике Мордовия, Чувашской Республике и Нижегородской области свидетельствует, что в последние годы наряду с некробактериозом, микст-инфекцией и болезнями пальцев и копытец незаразной этиологии, широкое распространение получил пальцевый дерматит (болезнь Мортелларо), связанный с завозом скота с латентной формой этой инфекции из других сельхозпредприятий. По результатам ортопедического обследования неблагополучного поголовья и исследований проб патологического материала от больных животных определен процент пораженности скота разными формами болезней пальцев, установлены разные стадии пальцевого дерматита у коров в ООО «Сабанчеевское» и проведена индикация возбудителей болезней, что необходимо для дальнейшей успешной разработки лечебно-профилактических мероприятий.

ANALYSIS OF THE EPIZOOTIC SITUATION ON INFECTIOUS DISEASES OF THE FINGERS AND HOOVES OF CATTLE IN SPECIFIC REGIONS OF THE RUSSIAN FEDERATION

Khuzin D.A. – Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Disinfectants Sector (ORCID 0000-0002-2338-4997); **Tarasova E.Yu. *** – Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Veterinary Sanitation (ORCID 0000-0002-9056-5798); **Potekhina R.M.** – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher at the Laboratory of Veterinary Sanitation (ORCID 0000-0002-9056-5798); **Yusupov S.A.** – Candidate of Veterinary Sciences, Researcher in the Disinfectants Sector (ORCID 0000-0002-1333-2974); **Lukina G.R.** – Junior Researcher, Laboratory of Veterinary Sanitation (ORCID 0009-0006-1007-3782); **Bykova P.V.** – Junior Researcher, Laboratory of Veterinary Sanitation (ORCID 0000-0003-3636-0633).

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety

* evgenechka1885@gmail.com

ABSTRACT

The massive incidence of disease in cattle, manifested by damage to the distal limbs, is the cause of significant economic damage caused to the livestock industry of the Russian Federation. In this regard, the purpose of the research was an epizootological analysis of the spread of diseases of the fingers and hooves of cattle in certain regions of the Russian Federation and conducting laboratory studies on identify pathogens. The clinical and epizootic situation regarding diseases of the distal extremities was studied during field trips to examine agricultural enterprises, orthopedic medical examination of cattle, and collect data on the dynamics of the spread of these diseases, conditions of keeping, feeding and economic use of cattle. An orthopedic examination revealed various clinical manifestations of diseases of the fingers and hooves of non-contagious etiology. The infectious etiology of diseases of the fingers and hooves was confirmed by laboratory studies of pathological material with a biological test on laboratory animals. An analysis of the epizootic situation regarding infectious diseases of the fingers and hooves of cattle in 3 agricultural enterprises producing milk in the Republic of Mordovia, the Chuvash Republic and the Nizhny Novgorod region, carried out in the period 2021-2022, along with necrobacteriosis, mixed infection and diseases of the limbs of non-contagious etiology, finger dermatitis (Mortellaro disease), associated with the import of livestock with a latent form of this infection from other agricultural enterprises. Based on the results of an orthopedic examination of unfavorable livestock and studies of samples of pathological material from sick animals, the percentage of livestock affected by various forms of finger diseases was determined, different stages of finger dermatitis were established in the «Sabancheevskoye» limited liability company (Alovskoye department).

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Профилактика заболеваний копытец важно все: моцион, подстилка, расчистка и ножные ванны / Э. Веремей, В. Журба, В. Руколь [и др.] // Животноводство России. – 2019. – № S1. – С. 48-50. – DOI 10.25701/ZZR.2019.13.28.015. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39714058
2. Руколь, В. М. Распространение и нозология хирургических болезней у крупного рогатого скота / В. М. Руколь // Сельскохозяйственные животные. – 2014. – № 2 (6). – С. 42-46. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22295140
3. Сайтханов, Э. О. Изучение частоты регистрации и характера патологии копытец в животноводческом хозяйстве с беспривязным содержанием / Э. О. Сайтханов, Д. С. Беседин, А. В. Рудная // Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета им. П.А. Костычева. – 2018. – № 3(39). – С. 62-67. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=35721858
4. Воробьев, А. Л. Препарат для лечения некробактериоза крупного рогатого скота / А. Л. Воробьев, Н. Н. Воробьев, Г. М. Шилов // Эффективное животноводство. – 2021. – № 2(168). – С. 51-53. – DOI 10.24412/cl-33489-2021-2-51-53. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=45416893
5. Лечение болезней копыт крупного рогатого скота некробактериозной этиологии / Ф. А. Бакиева, Қ. М. Шыныбаев, С. О. Кадыров [и др.] // Наука и образование. – 2022. – № 3-1(68). – С. 35-43. – DOI 10.56339/2305-9397-2022-3-1-35-43. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=53948283
6. Веревкина, М. Н. Заболевания конечностей крупного рогатого скота на промышленных молочных комплексах / М. Н. Веревкина // Интеллектуальный капитал и инновационное развитие общества, науки и образования / Под общ. ред. Г. Ю. Гуляева. – Пенза: МЦНС «Наука и Просвещение», 2018. – С. 180-190. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=36614986
7. Аналитика данных распространения Т-2 токсина в республике Татарстан / И. Н. Штыров, Э. И. Семенов, Л. Е. Матросова [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 1. – С. 167-172. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=45633170
8. Анализ рынка дезинфицирующих средств, используемых в отдельных животноводческих хозяйствах Приволжского федерального округа / Е. Ю. Тарасова, А. М. Тремасова, Д. А. Хузин [и др.] // Ветеринарный врач. – 2022. – № 3. – С. 58-66. – DOI 10.33632/1998-698X.2021_58_66. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48700867
9. Методические указания по лабораторной диагностике некробактериоза (Утв.ГУВ Агропрома СССР.01.06.1987), Москва: 1987. – 5 с.
10. Лабораторные исследования в ветеринарии. Бактериальные инфекции: справочник / Под ред. Б. И. Антонова. – Москва: Агропромиздат, 1986. – 352 с.
11. Методические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике некробактериоза, пальцевого дерматита и болезней копытец крупного рогатого скота незаразной этиологии / Д. А. Хузин, Х. Н. Макаев, А. И. Никитин, А. Н. Чернов. – Москва: Росинформагротех, 2017. – 41 с. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=43580870
12. Histological and bacteriological evaluation of digital dermatitis in cattle, with special reference to spirochaetes and Campylobacter faecalis / D. Dopfer, A. Koopmans, F.A. Meijer [et al.] // Veterinary Record. – 1997. – Vol. 140. – P. 620-623. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9228692/

REFERENCES

1.Prevention of diseases of the claws Everything is important: exercise, bedding, trimming and foot baths / E. Veremey, V. Zhurba, V. Rukol [et al.] // Animal husbandry of Russia. – 2019. – No. S1. – P. 48-50. – DOI 10.25701/ZZR.2019.13.28.015. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39714058 (In Russ.)

2.Rukol, V. M. Distribution and nosology of surgical diseases in cattle / V. M. Rukol // Agricultural animals. – 2014. – No. 2(6). – P. 42-46. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22295140 (In Russ.)
3.Saikhanov, E. O. Study of the frequency of registration and the nature of hoof pathology in livestock farms with free-stall housing / E. O. Saikhanov, D. S. Besedin, A. V. Rudnaya // Bulletin of the Ryazan State Agrotechnological University named after. P.A. Kostycheva. – 2018. – No. 3(39). – P. 62-67. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=35721858 (In Russ.)
4.Vorobyov, A. L. Drug for the treatment of necrobacteriosis in cattle / A. L. Vorobyov, N. N. Vorobyov, G. M. Shilov // Effective animal husbandry. – 2021. – No. 2(168). – P. 51-53. – DOI 10.24412/cl-33489-2021-2-51-53. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=45416893 (In Russ.)
5.5. Treatment of diseases of the hooves of cattle of necrobacteriosis etiology / F. A. Bakieva, K. M. Shynybaev, S. O. Kadyrov [et al.] // Science and education. – 2022. – No. 3-1(68). – P. 35-43. – DOI 10.56339/2305-9397-2022-3-1-35-43. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=53948283 (In Russ.)
6.Verevkina, M. N. Diseases of the limbs of cattle on industrial dairy complexes / M. N. Verevkina // Intellectual capital and innovative development of society, science and education / Ed. ed. G. Yu. Gulyaeva. – Penza: ICNS “Science and Enlightenment”, 2018. – P. 180-190. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=36614986 (In Russ.)
7.Analysis of data on the distribution of T-2 toxin in the Republic of Tatarstan / I. N. Shtyrov, E. I. Semenov, L. E. Matrosova [et al.] // International Veterinary Bulletin. – 2021. – No. 1. – P. 167-172. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=45633170 (In Russ.)
8.Analysis of the market for disinfectants used in individual livestock farms of the Volga Federal District / E. Yu. Tarasova, A. M. Tremasova, D. A. Khuzin [et al.] // The Veterinarian. – 2022. – No. 3. – P. 58-66. – DOI 10.33632/1998-698X.2021_58_66. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48700867 (In Russ.)
9.Guidelines for laboratory diagnosis of necrobacteriosis (Approved by GUV Agroprom USSR.01.06.1987), Moscow: 1987. – 5 p. (In Russ.)
10.Laboratory research in veterinary medicine. Bacterial infections: a reference book / Ed. B.I. Antonova. – Moscow: Agropromizdat, 1986. – 352 p. (In Russ.)
11.Methodological recommendations for the diagnosis, treatment and prevention of necrobacteriosis, digital dermatitis and diseases of the hooves of cattle of non-contagious etiology / D. A. Khuzin, Kh. N. Makaev, A. I. Nikitin, A. N. Chernov. – Moscow: Rosinformagrotekh, 2017. – 41 p. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=43580870 (In Russ.)
12.Histological and bacteriological evaluation of digital dermatitis in cattle, with special reference to spirochaetes and Campylobacter faecalis / D. Dopfer, A. Koopmans, F.A. Meijer [et al.] // Veterinary Record. – 1997. – Vol. 140. – P. 620-623. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9228692/

УДК: 619:616.98:578.831.11:615.371
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.41

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ИНАКТИВИРОВАННЫХ ВАКЦИН ПРОТИВ НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ НА ОСНОВЕ АНТИГЕНОВ ВИРУСА VII И II ГЕНОТИПА

Мороз Н.В. – канд. ветеринар. наук, зав. лаб. (orcid.org/0000-0002-9672-8594); **Долгов Д.Л. –** канд. ветеринар. наук, зав. сект. лаб. (orcid.org/0009-0009-5177-953X**)**; **Комаров И.А. –** мл. научн. сотр. (orcid.org/0000-0002-2084-4484); **Кулаков В.Ю. –** канд. ветеринар. наук, вед. научн. сотр. (orcid.org/0000-0002-1898-4576); **Вершинина М.А. –** асп. **(**orcid.org/0009-0002-6406-9229).

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

*moroz@arriah.ru

Ключевые слова: *ньюкаслская болезнь, вирус ньюкаслской болезни, инактивированная вакцина, антитела, антигенное родство.*

Key words: *Newcastle disease, Newcastle disease virus, inactivated vaccine, antibodies, antigenic affinity.*

Поступила: 27.02.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

В настоящее время ньюкаслская болезнь широко распространена во многих странах Евразии, Африки и Америки и наносит значимый экономический ущерб птицеводству. В Российской Федерации ежегодно регистрируются новые неблагополучные по ньюкаслской болезни пункты, кроме того, увеличилось количество хозяйств с бессимптомным течением на привитом поголовье с проявлением высоких титров специфических антител, снижением продуктивности и сохранности. Это связывают с эволюцией вируса, в процессе которой возникают новые генотипы, представленные высоковирулентными штаммами. Так, начиная с 2019 года в России в очагах ньюкаслской болезни выделяют субгенотип VII-L, против которого имеющиеся на рынке вакцины не обеспечивают полноценной защиты ввиду несоответствия антигенных свойств между вакцинными штаммами и данным субгенотипом. Создание вакцины на основе субгенотипа VII-L позволит обеспечить защиту стад домашней птицы против ньюкаслской болезни, вызываемой новыми изолятами возбудителя. На цыплятах кросса «Хайсекс Браун» в возрасте 30 сут. исследовали иммунологические свойства эмульсионных инактивированных вакцин против ньюкаслской болезни на основе антигенов вируса генотипов VII (штамм «ВНИИЗЖ G7») и генотипа II (штамма «Ла-Сота»). Были протестированы различные иммунизирующие дозы антигенов. Оценивали уровень гуморального иммунитета (титр антител в РТГА), а также протективный эффект (PD50) вакцин после заражения высоковирулентным штаммом вируса генотипа VII. Было установлено, что антигенная активность и протективный эффект обоих препаратов зависели от концентрации антигенов в прививном объеме. Оценки титров антител всегда были выше при использовании в РТГА гомологичных антиге-

нов. В остром опыте показатели протективного эффекта (PD50) составили: 1:105 и 1:50 у препаратов на основе антигена вируса «ВНИИЗЖ G7» и на основе антигена вируса «Ла-Сота», соответственно. Установили, что при сравнении одинаковых доз антигенов иммунологические показатели вакцины на основе антигена из штамма «ВНИИЗЖ G7» были выше. Двустороннее родство испытанных антигенов составило 18,3%.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В эпизоотиях ньюкаслской болезни (НБ), поразивших промышленное птицепоголовье Центральной Европы в конце 80-х годов XX столетия, были выделены вирусные изоляты, имеющие генетическую общность, которые впоследствии были отнесены к генотипу VII [1]. В последующие 30 лет представители данной генетической группы распространились практически по всему миру, включая Южную Америку и Китай [2]. В РФ в 2019 году в 17 очагах НБ был выделен субгенотип VII-L [3]. Проведенный в том же году силами лаборатории диагностики вирусных болезней птиц (ФГБУ ВНИИЗЖ) обширный серомониторинг показал наличие антител к вирусу НБ в 39% образцов у не прививавшихся дворовых кур и высокую серопревалентность синантропных птиц [4]. По данным ИАЦ Россельхознадзора на 21.08.2023 г. на территории РФ неоздоровленными остаются 6 очагов НБ [5].

Рассмотренная информация свидетельствует о необходимости специфической профилактики НБ и целесообразности проведения доказательного анализа эффективности используемых препаратов. Задачей настоящих исследований являлась сравнительная оценка иммунологических свойств двух вариантов инактивированных вакцин, изготовленных на основе антигенов вируса НБ штамма «ВНИИЗЖ G7» генотипа VII и штамма «Ла-Сота» генотипа II.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Вирусы. В эксперименте были использованы: – вирус НБ генотипа VII субгенотипа VII.1.1. штамм NDV/by/chicken/612/2022 (в тексте: «ВНИИЗЖ G7»); – вирус НБ генотипа II штамма «Ла-Сота» (в тексте: «Ла-Сота»). Вирусными материалами являлись образцы экстраэмбриональной жидкости (ЭЭЖ), полученные после инфицирования СПФ-эмбрионов кур (VALO BioMedia GmbH, Германия).

Вирусные антигены. Вирусные материалы инактивировали аминоэтилэтиленимином (0,25%) в течение 24 ч. при температуре 37 °С. Титр антигена определяли в реакции гемагглютинации (РГА) [6] и выражали в гемагглютинирующих единицах (ГАЕ). Антигены «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота» содержали 9 $\log_2$ ГАЕ/0,1 см^3 (5120 ГАЕ/см^3) и 10 $\log_2$ ГАЕ/0,1 см^3 (10240 ГАЕ/см^3) соответственно.

Вакцины. На основе вирусных антигенов и масляного адъюванта (Montanide ISA 70 VG, SEPPIC, Франция) готовили образцы эмульсионных вакцин. Каждый образец содержал антиген в заданной концентрации (разведении). Испытывали образцы, имеющие концентрацию антигена (D): 1(цельный); 1/25 и 1/50. Антиген объединяли с масляным адъювантом в соотношении 30:70 (по весу) и эмульгировали.

Иммунизация птиц. Использовали цыплят яичного кросса «Ломан Браун» из хозяйства, благополучного по острым инфекционным болезням, в возрасте 4 недель, серонегативных к вирусу НБ. Каждый образец вакцины испытывали на отдельной группе птиц. Вакцину вводили внутримышечно в объеме 0,5 см^3 в область груди. В контрольной группе птиц не иммунизировали.

Оценка напряженности поствакцинального гуморального иммунитета. В реакции торможения гемагглютинации (РТГА) [6] в сыворотках крови птиц, полученных через 28 сут. после вакцинации (п\в), определяли титр антител к вирусу НБ.

Контрольное заражение. Для заражения использовали вирулентный вирус НБ шт. «ВНИИЗЖ G7». Вакцинированных и контрольных птиц заражали через 28 сут. п\в. Вирусный материал вводили в дозе

6,0 lgЭИД$_{50}$/0,5 см³ внутримышечно в область бедра. В течение последующих 10 сут. контролировали клиническое состояние зараженной птицы.

Обработка данных. Вычислительные операции и графические построения выполняли в приложении Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Оценками напряженности поствакцинального гуморального иммунитета служили установленные в РТГА средние логарифмические титры антител к вирусу НБ (Т). Для постановки реакции параллельно использовали антигены «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота». Результаты клинических наблюдений в группах после контрольного заражения выражали в виде клинических показателей и индексов защиты. Установленные величины приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Показатели иммунологического действия инактивированных вакцин против НБ на основе антигенов «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота»

Оценки показателей соответственно испытанным препаратам и дозам антигенов					
Вакцина на основе антигена	Доза антигена (D)	результаты РТГА соответственно антигену $\log_2(T\pm S)$**		Клинический показатель	Индекс защиты
	D* (lg D)	«Ла-Сота»	«ВНИИЗЖ G7»	(∑c)/n***	P=1-(∑c)/n
«ВНИИЗЖ G7»	1 (0)	3,55±0,3	5,60±0,6	0/10	1,0
	1:25 (1,40)	3,33±0,3	5,67±0,6	0/10	1,0
	1:50 (1,70)	3,43±0,5	5,43±0,7	3/10	0,7
	1:100 (2,00)	1,25±0,3	3,00±0,6	5/10	0,5
«Ла-Сота»	1(0)	6,00±0,4	3,61±0,4	0/10	1,0
	1:25 (1,40)	6,00±0,6	3,44±0,4	2/10	0,8
	1:50 (1,70)	4,33±0,4	2,83±0,4	7/10	0,3
	1:100 (2,00)	3,50±0,8	1,83±0,3	7/10	0,3
контроль	не вакцинирован	2,10±1,6	1,8±1,2	10/10	0,0

* - *величина разведения антигена в составе препарата (D=1 обозначен не разведенный антиген);*

** - *средний логарифмический титр антител и соответствующее стандартное отклонение, установленные перед заражением птиц;*

*** - *∑c - суммарное количество клинически больных и погибших особей за период наблюдений; n – число птиц в группе до заражения.*

Таблица 2 – Прогнозируемые дозы вирусных антигенов, обеспечивающих защиту 50% (PD_{50}; PA_{50}) и 95% (PD_{95}; PA_{95}) иммунизированных птиц

Антиген	lgPD_{50}*	PD_{50}	PA_{50}, ГАЕ	lgPD_{95}	PD_{95}	PA_{95}, ГАЕ
«ВНИИЗЖ G7»	3,817/1,890 = 2,02	1:105	8,13	(3,817-1,279)/1,890 = 1,34	1:22	38,79
«Ла-Сота»	3,736/2,200 = 1,70	1:50	34,13	(3,736-1,279)/2,200 = 1,12	1:13	131,28

* - *рассчитаны по регрессионным уравнениям для $f_{50} = lg(0,5/(1-0,5)) = 0$ и $f_{95} = lg(0,95/(1-0,95)) = 1,279$*

Из данных таблицы следует: а) антигенная активность и протективный эффект обоих препаратов зависели от концентрации антигенов в прививном объеме; б) оценки титров антител всегда были выше при использовании в РТГА гомологичных антигенов; в) препарат на основе антигена «ВНИИЗЖ G7» (гомологичный заражающему штамму) демонстрировал больший протективный эффект.

Исследовали зависимость между дозой антигена и индексом защиты. Для приближения зависимости к линейному виду использовали формулу Берксона [7, с. 267], позволяющую получить линейные эквиваленты индексов: f = log (P/ (1 – P)). Для значений P = 1, приняли условные оценки $'P_1 = (1 – 1/5n)$ [8, с. 246]. Использовали регрессионный анализ. Построенные модели (уравнения) регрессии f по lgD для антигенов «ВНИИЗЖ G7» (1) и «Ла-Сота» (2) имели вид: 1) 'f=(-1,890) lgD+3,817; R^2=0,836 и 2) 'f=(-2,200) lgD+3,736; R^2=0,915, где: 'f - ожидаемый эквивалент для заданного значения lgD. Используя приведенные уравнения произвели расчет прогнозируемых доз антигенов, обеспечивающих защиту 50% (PD_{50}) и 95% (PD_{95}) вакцинированных птиц. Кроме этого, вычислили соответствующие концентрации в единицах гемагглютинации (РА, ГАЕ). Полученные результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 демонстрирует, что для достижения защиты 50% вакцинированных птиц антигена «ВНИИЗЖ G7» требовалось меньше, чем антигена «Ла-Сота», как в относительных единицах (105/50=2,10), так и в ГАЕ (34,13/8,13=4,20). Аналогичное сравнение для достижения 95% защиты показало следующие соотношения 22/13 = 1,70 и 131,28/38,79 = 3,40.

На основании данных РТГА исследовали антигенную родственность штаммов «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота». Анализировали результаты наибольших иммунизирующих доз. Использовали стандартную процедуру Архетти и Хорсвала, в соответствии с которой для двух антигенов и двух сывороток в гомо- и гетерологичных реакциях (hom и het) определяли значения титров (Thom и Thet), оценивали два отношения (r1 и r2) вида r = Thet / Thom, и вычисляли результирующий процентный показатель $R = 100\sqrt{(r1 \times r2)}$.

Расчеты выполняли с использованием логарифмов. Полученные результаты приведены в таблице 3.

Результаты, представленные в таблице 3, показали, что обе оценки log2(r) по критерию двух стандартных отклонений были статистически значимы ($p < 0,05$), что позволило считать показатель R=18,3% достоверной оценкой двустороннего антигенного родства между штаммами «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота» вируса НБ.

Таблица 3 – Оценка двустороннего антигенного родства (R) в РТГА между штаммами «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота» вируса НБ *

Вариант реакции**	$\log_2 T$	$\log_2(r) = \log_2 T_{het} - \log_2 T_{hom}$	$R^{***} = \times 100$ (%)
hom: s («ВНИИЗЖ G7») ×a («ВНИИЗЖ G7»)	5,67±0,6	- 2,34±0,67	18,3 (13,0 ÷ 25,7) #
het: s («ВНИИЗЖ G7») ×a («Ла-Сота»)	3,33±0,3		
hom: s («Ла-Сота») ×a («Ла-Сота»)	6,00±0,6	- 2,56±72	
het: s («Ла-Сота») ×a («ВНИИЗЖ G7»)	3,44±0,4		

* - *по результатам испытания наибольших иммунизирующих доз (данные из таблицы 1);*

** - *hom, het - гомо- и гетерологичные реакции; s - сыворотка; a - антиген;*

*** - $log_2R = [log_2(r)_1 + log_2(r)_2]/2$;

\# - *в скобках указаны границы ошибки измерения R.*

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Вирус НБ является РНК-содержащим, что предполагает высокую частоту ошибок считывания генома при репликации [9]. Это объясняет быструю эволюцию возбудителя. Например, установлено, что наследуемая вариация структуры эпитопа гемагглютинин-нейраминидазы произошла в течение 6 лет у 22 из 56 изолятов вируса НБ [10]. Таким образом антигенная удаленность вакцинных и полевых штаммов, может быть, одной из главных причин снижения эффективности вакцин против НБ, применяемых на практике. Кроме этого известно, что иммунные сыворотки, полученные после вакцинации птиц антигеном штамма «Ла-Сота», тестируемые в РТГА с гомо- и гетерологичными антигенами (штаммов генотипа VII) демонстрировали значительные различия [11]. Это предполагает, что для оценки поствакцинального иммунитета птиц против НБ целесообразно использовать в РТГА антигены актуальных эпизоотических штаммов вируса.

Эмульсионная инактивированная вакцина против НБ, изготовленная на основе антигена из штамма «ВНИИЗЖ G7», по изученным свойствам (интенсивности гуморальной иммунной реакции и протективному действию против вируса генотипа VII) продемонстрировала более высокие показатели, чем аналогичный препарат на основе антигена из штамма «Ла-Сота».

IMMUNOLOGICAL PROPERTIES OF INACTIVATED NEWCASTLE DISEASE VACCINES BASED ON VIRUS OF VII AND II GENOTYPES

Moroz N.V. – Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Laboratory of Prophylaxis of Avian Diseases, (*orcid.org/0000-0002-9672-8594)*, **Dolgov D.L. –** Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Head of Inactivated Vaccines Sector of Laboratory of Prophylaxis of Avian Diseases (*orcid.org/0009-0009-5177-953X*), **Komarov I.A. –**Junior Research Scientist of Inactivated Vaccines Sector of Laboratory of Prophylaxis of Avian Diseases (*orcid.org/0000-0002-2084*-4484), **Kulakov V.J. –** Leading Research Scientist of Live Vaccines Sector of Laboratory of Prophylaxis of Avian Diseases (*orcid.org/0000-0002-1898-4576)*, **Vershinina M.A. –** PG student of Laboratory of Prophylaxis of Avian Diseases (*orcid.org/0009-0002-6406-9229)*

FGBI «Federal Center for Animal Health» (FGBI «ARRIAH»)

*moroz@arriah.ru

ABSTRACT

Newcastle disease (ND) is now widely spread in many countries of Eurasia, Africa and the Americas and causes significant economic damage to poultry farming. New ND-infected localities are reported in the Russian Federation every year; besides, the number of farms with vaccinated poultry demonstrating high specific antibody titres, decreased performance and survivability while being asymptomatic has increased. This is attributed to the virus evolution leading to the emergence of new genotypes represented by highly virulent strains. Since 2019, subgenotype VII-L has been isolated from Newcastle disease outbreaks in Russia. The vaccines currently available on the market do not confer appropriate protection against it due to the lack of antigenic matching between vaccine strains and this subgenotype. The development of a vaccine based on subgenotype VII -L will allow to ensure protection of poultry flocks against Newcastle disease caused by new NDV isolates. The immunological properties of emulsion inactivated vaccine against Newcastle disease based on genotype VII NDV (ARRIAH G7 strain) antigen were studied in 30-day-old Hisex Brown chickens. A similar vaccine based on genotype II NDV LaSota strain antigen was used as control. Tests of different immunizing antigen doses were carried out. The vaccines were tested for induced humoral immunity level (HI antibody titres), as well as for protective effect (protective index) after challenge with a highly virulent genotype VII NDV strain. The tests revealed that the antigenic activity and protective effect of both vaccines depended on the antigen concentration in the

inoculation volume. Antibody titres were always higher when homologous antigens were used in HI tests. The vaccine based on the antigen of ARRIAH G7 strain (homologous to the challenge strain) was more effective than the control vaccine. Less ARRIAH G7 strain antigen was required to protect 50% of vaccinated poultry, compared with LaSota strain antigen. The comparative assessment of the same doses of the antigens showed that the vaccine based on ARRIAH G7 strain antigen had better immunological properties. The tested antigens demonstrated 18.3% bilateral affinity.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Dimitrov K.M., Claudio L.A., Qingzhong Yu, Patti J.M. Newcastle disease vaccines – A solved problem or a continuous challenge? Veterinary Microbiology. 2017; 206:126-136. URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113516308045?via%3Dihub (дата обращения: 23.10.2023).

2.Lomniczi B., Wehmann E., Herczeg J., Ballagi-Pordany A., Kaleta E.F., Werner O, et al. Newcastle disease outbreaks in recent years in western Europe were caused by an old (VI) and a novel genotype (VII). Archives of Virology. 1998; 143:49-64. URL: https://link.springer.com/article/10.1007/s007050050267?utm_source=getftr&utm_medium=getftr&utm_campaign=getftr_pilot (дата обращения: 23.10.2023).

3.Фролов С.В., Мороз Н.В., Чвала И.А., Ирза В.Н. Эффективность вакцин против ньюкаслской болезни производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» в отношении актуальных вирусов VII генотипа. Ветеринария сегодня. 2021;1(1):44-51. URL: https://veterinary.arriah.ru/jour/article/view/543 (дата обращения: 23.10.2023).

4.Волкова М.А., Чвала Ир.А., Осипова О.С., Кулагина М.А., Андрейчук Д.Б. Серологический мониторинг гриппа птиц и ньюкаслской болезни в Российской Федерации в 2019 году. Ветеринария сегодня. 2020;(2):76-82. URL: https://veterinary.arriah.ru/jour/article/view/471 (дата обращения: 23.10.2023).

5.Россельхознадзор. Информация по болезни Ньюкасла в Российской федерации. Вспышки болезни Ньюкасла на территории РФ в 2023 г. (по данным на 21.08.2023); URL: https://fsvps.gov.ru/sites/default/files/files/iac/maps/2023/21-08/bn.pdf (дата обращения: 23.10.2023).

6.Newcastle disease (infection with Newcastle disease virus). Chapter 3.3.14. OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 12-th ed. 2023. URL: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/A_summry.htm (дата обращения: 23.10.2023).

7.Ван дер Ваден Б. Л. Математическая статистика. Москва: Издательство иностранной литературы; 1960. 434 с. URL: https://www.studmed.ru/van-der-varden-vl-matematicheskaya-statistika_5edc08a882c.html (дата обращения: 23.10.2023).

8.Урбах В. Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. Москва: Медицина; 1975. 297 с. URL: https://www.studmed.ru/urbah-vyu-statisticheskiy-analiz-v-biologicheskih-i-medicinskih-issledovaniyah_732e15c6942.html (дата обращения: 23.10.2023).

9.Жданов В.М. Эволюция вирусов. Москва: Медицина. 1990, 376 с. URL: https://www.studmed.ru/zhdanov-vm-evolyuciya-virusov_718275230fd.html (дата обращения: 23.10.2023).

10.Sun-Hee Cho, Hyuk-Joon Kwon, Tae-Eun Kim, Jae-Hong Kim, Han-Sang Yoo, Sun-Joong Kim. Variation of a newcastle disease virus hemagglutinin-neuraminidase linear epitope. Journal of Clinical Microbiology. 2008;46:1541–1544. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2292945/ (дата обращения: 23.10.2023).

11.Jingjing Liu, Jie Zhu, Haixu Xu, Juan Li, Zenglei Hu, Shunlin Hu, et al. Effects of the HN Antigenic Difference between the Vaccine Strain and the Challenge Strain of Newcastle Disease Virus on Virus Shedding and Transmission. Viruses. 2017;9(8):225. URL: https://www.mdpi.com/1999-4915/9/8/225/htm#table_body_display_viruses-09-00225-t002 (дата обращения: 23.10.2023).

REFERENCES

1.Dimitrov K.M., Claudio L.A., Qingzhong Yu, Patti J.M. Newcastle disease vaccines—A solved problem or a continuous challenge? Veterinary Microbiology. 2017; 206:126-136. URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113516308045?via%3Dihub (accessed: 23.10.2023).

2.Lomniczi B., Wehmann E., Herczeg J., Ballagi-Pordany A., Kaleta E.F., Werner O, et al. Newcastle disease outbreaks in recent years in western Europe were caused by an old (VI) and a novel genotype (VII). Archives of Virology. 1998; 143:49-64. URL: https://link.springer.com/article/10.1007/s007050050267?utm_source=getftr&utm_medium=getftr&utm_campaign=getftr_pilot (accessed: 23.10.2023).

3.Frolov S.V., Moroz N.V., Chvala I.A., Irza V.N. Effectiveness of vaccines produced by the Federal State-Financed Institution "ARRIAH" against topical genotype VII Newcastle disease viruses. Veterinary Science Today. 2021;1(1):44-51. URL: https://veterinary.arriah.ru/jour/article/view/543 (accessed: 23.10.2023).

4.Volkova M.A., Chvala Ir.A., Osipova O.S., Kulagina M.A.., Andreychuk D.B. Serological monitoring of avian influenza and Newcastle disease in the Russian Federation in 2019. Veterinary Science Today. 2020;(2):76-82. URL: https://veterinary.arriah.ru/jour/article/view/471 (accessed: 23.10.2023).

5.Rosselkhoznadzor. Information on Newcastle disease in the Russian Federation. Outbreaks of Newcastle disease in the Russian Federation in 2023 (as of 08/21/2023)); URL: https://fsvps.gov.ru/sites/default/files/files/iac/maps/2023/21-08/bn.pdf (accessed: 23.10.2023).

6.Newcastle disease (infection with Newcastle disease virus). Chapter 3.3.14. OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 12-th ed. 2023. URL: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/A_summry.htm (accessed: 23.10.2023).

7.Van der Vaden B.L. Mathematical Statistics. Moscow: Foreign Languages Publishing House; 1960. 434 c. URL: https://www.studmed.ru/van-der-varden-vl-matematicheskaya-statistika_5edc08a882c.html (accessed: 23.10.2023).

8.Urbah V.J. Statistical Analysis in Biological and Medical Researches. Moscow: Medicine; 1975. 297 c. URL: https://www.studmed.ru/urbah-vyu-statisticheskiy-analiz-v-biologicheskih-i-medicinskih-issledovaniyah_732e15c6942.html (accessed: 23.10.2023).

9.Zhdanov V.M. Evolution of Viruses. Moscow: Medicine. 1990, 376 c. URL: https://www.studmed.ru/zhdanov-vm-evolyuciya-virusov_718275230fd.html (accessed: 23.10.2023).

10.Sun-Hee Cho, Hyuk-Joon Kwon, Tae-Eun Kim, Jae-Hong Kim, Han-Sang Yoo, Sun-Joong Kim. Variation of a newcastle disease virus hemagglutinin-neuraminidase linear epitope. Journal of Clinical Microbiology. 2008;46:1541–1544. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2292945/ (accessed: 23.10.2023).

11.Jingjing Liu, Jie Zhu, Haixu Xu, Juan Li, Zenglei Hu, Shunlin Hu, et al. Effects of the HN Antigenic Difference between the Vaccine Strain and the Challenge Strain of Newcastle Disease Virus on Virus Shedding and Transmission. Viruses. 2017;9(8):225. URL: https://www.mdpi.com/1999-4915/9/8/225/htm#table_body_display_viruses-09-00225-t002 (accessed: 23.10.2023).

ИНВАЗИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК: 616.995.428:636.93.083.312.5(470.331)
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.48

ОСОБЕННОСТИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ОТОДЕКТОЗА ПРИ КЛЕТОЧНОМ РАЗВЕДЕНИИ ПУШНЫХ ЗВЕРЕЙ В ЗВЕРОВОДЧЕСКИХ ХОЗЯЙСТВАХ ТВЕРСКОЙ ОБЛАСТИ

Ромашова Е. Б.* – асп. каф. паразитологии им. В. Л. Якимова (ORCID 0000-0003-0443-4079)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*Elizavettarom@mail.ru

Ключевые слова: *отодектоз, Otodectes cynotis, пушные звери, норка, лисица, хорь.*
Key words: *otodectosis, Otodectes cynotis, fur-bearing animals, mink, fox, ferret.*

Поступила:31.01.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Пушное звероводство остается рентабельной отраслью сельского хозяйства России и других стран. Качественная пушнина высоко ценится на рынке. На рост, развитие и продуктивность пушных зверей при клеточном разведении весомое влияние оказывают отдельные группы биотических и абиотических факторов. Одними из биотических факторов являются инвазионные болезни, а в их составе – эктопаразитозы. Возбудители эктопаразитозов имеют широкое распространение у пушных зверей. Среди эктопаразитозов наиболее распространенным и патогенным, нередко приводящим к гибели молодняка, является отодектоз, вызванный ушным клещом *Otodectes cynotis*. Мы провели изучение эпизоотической ситуации по отодектозу среди пушных зверей в зверохозяйствах Тверской области: «Мермерины» и «Савватьево». Были обследованы три вида пушных зверей: лисица, американская норка, хорь. В ходе обследования провели клинический осмотр животных и исследование под микроскопом паразитологического материала из ушной раковины и наружного слухового канала для обнаружения *O. cynotis*. Исходя из наших исследований, мы опередили особенности распространения отодектоза и представили некоторые эпизоотические аспекты циркуляции этой инвазии у пушных зверей в звероводческих хозяйствах. Ушные клещи отмечены во всех возрастных группах лисиц (5 мес., 1 год и 2 года), выявлены высокие показатели экстенсивности инвазии (ЭИ) (от 81,0 до 100,0%), максимально у двухгодовиков (100,0%). Величина интенсивности инвазии (ИИ) варьирует ся от 12,8 до 23,4 экз., значительно снижается у двухгодовиков (16,5 экз.), максимально зарегистрирована у годовиков (23,4 экз.). Ушные клещи обнаружены у хорей в

двух возрастных группах – у годовиков и двухгодовиков. Самые высокие показатели зараженности (ЭИ и ИИ) ушным клещом выявлены у двухгодовиков, у годовиков эти индексы заметно меньше, особенно ИИ (примерно в 7 раз). В обоих звероводческих хозяйствах проведены диагностические исследования зараженности американских норок ушными клещами. По нашим данным возбудители отодектоза у норок не выявлены. Выраженные характерные клинические признаки отодектоза отмечены у лисиц, в меньшей степени у хорей и не отмечены у норок. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о широком распространении отодектоза у лисиц и хорей. Среди лисиц выявлены высокие индексы инвазирования во всех возрастных группах, поэтому лисицы равноценно участвуют в циркуляции *O. cynotis*; ведущую роль в циркуляции и поддержании инвазионного потенциала отодектоза среди хорей играют взрослые зверьки – двухгодовики.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Пушное звероводство является актуальной и рентабельной отраслью в сельском хозяйстве России. Ведущие направления в развитии пушного звероводства связаны с увеличением производства, повышением качества и расширением ассортимента меховой продукции. По-прежнему, пушнина пользуется спросом и высоко ценится на российском и международном рынках. В настоящее время отмечена тенденция к возрастанию интереса к натуральным мехам.

На рост, развитие и продуктивность пушных зверей при клеточном разведении весомое влияние оказывают отдельные группы биотических и абиотических факторов. Среди биотических факторов это – болезни, а в их составе инвазионные болезни, вызываемые эктопаразитами. Возбудители эктопаразитозов часто заражают пушных зверей и имеют широкое распространение. Они представлены многочисленной группой членистоногих (тип Artropoda), включающих насекомых и клещей. Так, блохи, власоеды, вши, паразитиформные и акариформные клещи, паразитируя на поверхности тела, отрицательно влияют на качество жизни зверей. Эктопаразиты вызывают у животных-хозяев постоянное беспокойство и зуд, могут существенно влиять на качество получаемой пушнины, снижать репродуктивный потенциал размножающихся зверей и даже при высокой ИИ приводить к гибели, прежде всего, молодняка. В этой связи для ветеринарных специалистов важными являются задачи, направленные на разработку эффективных мер профилактики и борьбы с эктопаразитозами пушных зверей при клеточном разведении.

В данном контексте эктопаразитозы и их возбудители имеют важное научно-практическое значение и представляют неизменный интерес у отечественных и зарубежных исследователей и практиков. Основные научно-исследовательские направления связаны с изучением морфологии и систематики, фауны и биоразнообразия, биологии развития и экологии эктопаразитов. Полученные в рамках этих исследований результаты являются основой в разработке и решении многочисленных задач для прикладной ветеринарии в отношении эктопаразитозов, включая эпизоотологию, диагностику и количественные критерии инвазирования, лечение и профилактику, мониторинг и эпизоотические риски [1].

В настоящее время опубликованы многочисленные материалы по видовому разнообразию и эколого-эпизоотологическим аспектам циркуляции эктопаразитов у пушных зверей при клеточном разведении в различных звероводческих хозяйствах. Анализ данных показывает, что среди эктопаразитозов наиболее распространенными и патогенными, нередко приводящими к гибели молодняка, являются отодектоз и саркоптоз [2, 3, 4, 5, 6]. Подчеркивается, что эти инвазии являются особенно актуальными у пушных зверей при клеточном содержании. Также в составе эктопаразитов многие авторы указывают на широкое распространение и немаловажное эпизоотическое значение для пушных зверей

псороптоза и афаниптероза [7, 8].

С учетом представленных материалов и результатов наших исследований обращаем внимание на актуальное значение для пушных зверей ушной чесотки или отодектоза. Данной болезни, ее практическим и научным аспектам посвящены многочисленные публикации российских и зарубежных исследователей [2, 3, 4, 9, 10, 11]. В этих работах ученые и ветеринарные специалисты рассматривают вопросы эпизоотологии, лечения и профилактики отодектоза, в отдельных публикациях обращают внимание на эколого-биологические аспекты циркуляции отодектоза в дикой природе. Данный аспект предполагает высокую вероятность расширения ареала возбудителя, возможность его устойчивой циркуляции и резервирования в природных условиях и последующего переноса на урбанизированные территории [6, 9, 11, 12,13].

Следовательно, в настоящее время отодектоз пушных зверей – это актуальная проблема современной прикладной ветеринарии. Как патогены, клещи рода *Otodectes*, могут приводить к тяжелым заболеваниям, вызывать нарушения в развитии и снижать репродуктивный потенциал животных. Это проявляется в снижении качества получаемой пушнины, уменьшению выхода щенков, а в некоторых случаях могут приводить к гибели молодняка. На основе исследований по оценке влияния ушных клещей на хозяев отмечен значительный экономический ущерб для звероводческих хозяйств.

Цель настоящей работы – исследование особенностей эпизоотологии отодектоза у пушных зверей в звероводческих хозяйствах Тверской области, как основы для разработки эффективных лечебно-профилактических мероприятий по борьбе с этим эктопаразитозом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования по распространению отодектоза у пушных зверей при клеточном разведении проводили в звероводческих хозяйствах «Савватьево» и «Мермерины» на территории Тверской области. Климат в Тверской области преимущественно умеренно-континентальный, однако выражены и переходные признаки от континентального к более влажному климату, характерному для северо-западных районов России. Осадков в год выпадает около 650 мм рт. ст. Звероводческое хозяйство «Савватьево» разводит соболей, лисиц и американских норок, общее поголовье которых насчитывает около 200 тыс. голов. Звероводческое хозяйство «Мермерины» – хорей и американских норок, общее поголовье которых составляет около 250 тыс. голов.

Паразитологическому исследованию были подвергнуты три вида пушных зверей в весенне-летний период 2022-2023 гг. (май – июль). Материалы собраны от лисицы – 86 особей трех возрастных групп: 21 особь – 5 мес., 15 особей – 1 год, 50 особей – 2 года; от хоря – 45 особей трех возрастных групп: 15 особей – 3 мес., 15 особей – 1 год, 15 особей – 2 года; от американской норки 32 особи: 16 особей – 6 мес., 16 особей – 1 год. В исследованных группах зверей примерно в равных долях были представлены самцы и самки.

Сбор паразитологического материала производили при помощи ушных палочек с внутренней поверхности ушной раковины и наружного слухового прохода. Ушные палочки помещали в отдельные zip-lock пакеты, которые хранили в холодильнике, на этикетке указывали вид, пол и возраст животного-хозяина. Также при взятии паразитологического материала описывали клинические признаки проявления отодектоза.

Диагностику отодектоза и морфологию паразитов проводили в лаборатории по изучению паразитарных болезней Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины и на кафедре паразитологии им. В.Л. Якимова. Пробы материала переносили с ушной ватной палочки на предметное стекло и помещали в водный раствор глицерина (соотношение 1:1) и накрывали покровным стеклом. Препараты на первом этапе

подвергали морфологической диагностике в стереоскопическом микроскопе Motic -SMZ 161 при увеличении х25-35 . На следующем этапе более тонкие морфолого-таксономические исследования клещей проводили на микроскопе Биомед-6 (при увеличении х40-400). Визуализацию и фиксирование изображения, а также измерение изучаемых паразитов выполняли при помощи цифровой камеры UCMOS03100KPA.

Для оценки количественных показателей зараженности и распределения клещей в хозяевах использовали следующие индексы: экстенсивность инвазии (ЭИ) (встречаемость) и интенсивность инвазии (ИИ) (численность локальной гемипопуляции) [14]. ЭИ является результатом соотнесения числа зараженных животных к числу исследованных, выраженное в % (х100%). ИИ измеряется количеством паразитов (экз.) – результат соотнесения числа паразитов в исследованной выборке животных к числу зараженных. С учетом особенностей взятия материала представляем относительную величину ИИ, рассчитанную по количеству клещей, обнаруженных в исследуемой пробе. Необходимые статистические расчеты и анализ данных производили с использованием прикладных компьютерных программ MC Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

По материалам настоящих исследований получены следующие результаты по распространению ушного клеща (*O. cynotis*) (Рис. 1, 2) и некоторым аспектам эпизоотологии отодектоза в звероводческих хозяйствах Тверской области. Ниже представлены эти материалы (табл. 1, 2). Анализ результатов исследований указывает на сравнительно высокие показатели зараженности лисиц отодектозом (табл. 1).

В трех возрастных группах лисицы было отмечено постепенное нарастание ЭИ от 81% до абсолютных величин (100%). Напротив, максимальная величина ИИ выявлена у годовиков (23,4 экз.), а у двухгодовиков обнаружено существенное снижение этого показателя (16,5 экз.) (табл. 1). Можно предположить, что подобное снижение обусловлено двумя факторами. С одной стороны, развитием возрастного иммунитета, с другой – особенностями патогенетического развития и проявления патологии. Во втором случае с возрастом наблюдали усиление воспалительного процесса в результате развития, прежде всего, кокковой инфекции и появления осложнений, что с высокой долей вероятности влияет на *O. cynotis*, снижая численность (ИИ) клеща.

Полученные данные указывают на широкое распространение отодектоза среди лисиц в обследованном зверохозяйстве «Савватьево». Следует отметить, что с учетом результатов по ЭИ и ИИ все возрастные группы лисиц примерно в равной мере поддерживают инвазионный потенциал в циркуляции *O. cynotis*, являясь источником заражения новых зверей и резервирования возбудителя. Однако дифференцированная оценка результатов по инвазированию лисиц позволяет нам показать, что наиболее актуальной возрастной группой этих хозяев с точки зрения эпизоотической значимости отодектоза являются годовики. Для этой группы выявлен сравнительно высокий показатель ЭИ (86,7%) и самый большой индекс ИИ (23,4 экз.).

По результатам исследования хорей были зарегистрированы следующие особенности в инвазировании ушным клещом. Так, у молодых зверьков (возраст 3 мес.) клещей не диагностировали. В следующих возрастных группах (годовики и двухгодовики) у хорей отмечаем возрастание зараженности O. cynotis. У годовиков ЭИ достигает 86,6% у двухгодовиков – абсолютных величин (100,0%), а ИИ показывает существенный рост от годовиков к двухгодовикам почти в 7 раз – от 2,8 до 19,0 экз. (табл. 2).

Следовательно, максимальные показатели зараженности выявлены у хорей в возрасте 2 года, для которых характерны самые высокие показатели ИИ *O. cynotis*. Полученные данные указывают на широкое распространение отодектоза среди взрослых хорей в зверохозяйстве

«Мермерины». Важно отметить, что в этом хозяйстве ведущую роль в поддержании инвазионного потенциала отодектоза играют взрослые зверьки (возраст 2 года).

Обследованные звероводческие хозяйства «Савватьево» и «Мермерины» примерно в одинаковой мере специализируются на разведении американской норки. Преимущественно в этих хозяйствах выдерживают похожие требования по содержанию и кормлению зверьков. Выборка исследованных норок составила 32 особи, по 16 зверьков из каждого хозяйства. В соответствии с аналогичной методикой (как у лисицы и хоря) при помощи ушных палочек брали пробы паразитологического материала с внутренней поверхности ушных раковин и из наружного слухового прохода.

По результатам диагностических исследований в отношении норок получен отрицательный результат. Следовательно, норки в зверохозяйствах «Савватьево» и «Мермерины» не заражены и не заражаются *O. cynotis*. Данный факт, на наш взгляд, можно объяснить особенностями возникновения в процессе эволюции морфологических адаптаций, связанных с обитанием в водной среде, включая органы слуха, которые эффективно защищены от проникновения возбудителя отодектоза.

К важным аспектам диагностики отодектоза относятся клинические признаки проявления этого эктопаразитоза у пушных зверей. По результатам осмотра отмечали гиперемию кожи ушной раковины и наружного слухового канала, также обильные густые выделения от темно-коричневого до черного цвета. При осмотре и пальпации у животных обнаруживали признаки зуда, при взятии материала ушными палочками – признаки болезненности и присутствие неприятного сладковатого запаха содержимого ушной раковины. У лисиц с высокой степенью зараженности отмечали кривоголовость, обильные гнойные выделения бело-желтого цвета, рваные кровоточащие раны на ушных раковинах и в области шеи. Наиболее выраженные клинические признаки отодектоза мы регистрировали у лисиц всех возрастов. У хорей отмечали в меньшей мере проявление клинических признаков отодектоза. У норок клинические признаки отодектоза отсутствовали, ушные раковины были чистыми и не имели повреждений. Выделения при отборе проб были минимальными и естественного окраса (светло-коричневого), у зверьков зуд и болезненность отсутствовали при взятии материала из слухового прохода.

Рисунок 1 – O. cynotis, ув.: х20

Рисунок 2 – O. cynotis, ув.: х20

Таблица 1 – Результаты по зараженности различных возрастных групп лисиц *O. cynotis* (звероводческое хозяйство «Савватьево», Тверская область)

Вид хозяина, возраст	Исследовано особей	Заражено особей		Относительная ИИ, средняя (min-max), экз.
		количество	ЭИ, %	
Лисица, возраст 5 мес.	21	17	81,0	12,8 (1-45)
Лисица, возраст 1 год	15	13	86,7	23,4 (1-55)
Лисица, возраст 2 года	50	50	100,0	16,5 (1-170)
Всего	86	80	93,0	17,4 (1-170)

Таблица 2 – Результаты по зараженности различных возрастных групп хорей *O. cynotis* (звероводческое хозяйство «Мермерины», Тверская область)

Вид хозяина, возраст	Исследовано особей	Заражено особей		Относительная ИИ, экз., средняя (min-max)
		количество	ЭИ, %	
Хорь, возраст 3 мес.	15	-	-	-
Хорь, возраст 1 год	15	13	86,6	2,8 (1-4)
Хорь, возраст 2 года	15	15	100,0	19,0 (3-36)
Всего	45	28	62,2	12,3 (1-36)

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

По результатам настоящих исследований нами проанализированы особенности распространения отодектоза и представлены некоторые эпизоотические аспекты циркуляции этой инвазии у пушных зверей в звероводческих хозяйствах Тверской области.

В хозяйстве «Савватьево» исследованы два вида пушных зверей: лисица и американская норка. Ушные клещи отмечены во всех возрастных группах лисиц (5 мес., 1 год и 2 года), выявлены высокие показатели ЭИ (от 81,0 до 100,0%), максимально у двухгодовиков (100,0%). Относительная величина ИИ варьирует от 12,8 до 23,4 экз., значительно снижается у двухгодовиков (16,5 экз.), максимально зарегистрирована у годовиков (23,4 экз.). Полученные результаты свидетельствуют, во-первых, о широком распространении отодектоза у лисиц, во-вторых, высоком уровне индексов инвазирования во всех возрастных группах лисицы и представляют их равноценное участие в циркуляции *O. cynotis*. Однако мы считаем, что годовики являются эпизоотически наиболее актуальной по отодектозу возрастной группой лисиц.

В хозяйстве «Мермерины» исследованы два вида пушных зверей: хорь и американская норка. Ушные клещи обнаружены у хорей в двух возрастных группах – у годовиков и двухгодовиков. Самые высокие показатели зараженности (ЭИ и ИИ) ушным клещом выявлены у двухгодовиков, у годовиков эти индексы заметно меньше, особенно ИИ (примерно в 7 раз). В зверохозяйстве «Мермерины» отодектоз распространен, прежде всего, среди взрослых хорей. Ведущую роль в циркуляции и поддержании инвазионного потенциала отодектоза играют взрослые зверьки – двухгодовики.

В обоих звероводческих хозяйствах проведены диагностические исследования в отношении зараженности американских норок ушными клещами. По нашим данным возбудители отодектоза у норок не выявлены. С учетом этих результатов считаем, что в процессе эволюции у норок в связи с обитанием в водной среде, возникли защитные механизмы, в том числе морфологические, которые эффективно препятствуют проникновению возбудителя отодектоза в орган слуха.

По материалам наших исследований в отношении лисиц и хорей как носителей *O. cynotis*, описаны основные признаки, характеризующие особенности клинической картины отодектоза в связи с уровнями инвазирования животных ушным клещом.

FEATURES OF THE PREVALENCE OF OTODECTOSIS DURING THE BREEDING OF FUR-BEARING ANIMALS IN CAGES IN THE FARMS OF THE TVER REGION

Romashova E. B.[*] - postgraduate student of the Department of Parasitology named after V.L. Yakimov (ORCID 0000-0003-0443-4079)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

[*]Elizavettarom@mail.ru.

ABSTRACT

Fur farming is a profitable branch of agriculture in Russia and other countries. High-quality furs are valued on the market. Biotic and abiotic factors influence the growth, development and productivity of fur-bearing animals on farms. Ectoparasitoses in the group of invasive diseases are a biotic factor. Pathogens of ectoparasitosis are widespread among fur-bearing animals. Otodectosis caused by the ear mite *Otodectes cynotis* is the most common and pathogenic. Otodectosis leads to the death of young animals. We conducted a study of the epizootic situation regarding otodectosis among fur-bearing animals in the fur farms of the Tver region: “Mermerins” and “Savvatyevo”. We examined three types of fur-bearing animals: fox, American mink, and ferrets. During the examination, we conducted a clinical examination of animals and microscopic examination of parasitological material from the auricle and external auditory canal in order to detect *O. cynotis*. Based on our research, we were ahead of the peculiarities of the spread of otodectosis and presented the epizootic aspects of the circulation of this invasion in fur-bearing animals. Ear mites were found in all age groups of foxes (5 months, 1 year and 2 years), we found high rates prevalence of infection (from 81.0 to 100.0%), maximum in animals aged 2 years (100.0%). The relative intensity of infection varies from 12.8 to 23.4 copies; it is significantly reduced in animals aged 2 years (16.5 copies), the maximum recorded in animals aged 1 year (23.4 copies). Ear mites were found in ferrets in two age groups – 1 year and 2 years. The highest rates of ear mite infestation were found in animals aged 2 years; these indices are lower in animals aged 1 year. We examined American minks at both fur farms. According to our data, causative agents of otodectosis have not been identified in minks. Characteristic clinical signs of otodectosis were present in foxes, clinical signs of otodectosis were less common in ferrets, and there were no clinical signs of otodectosis in minks. Thus, the results obtained indicate a wide distribution of otodectosis in foxes and ferrets. Among foxes, we found high indices of invasion in all age groups; foxes participate equally in the circulation of *O. cynotis*; ferrets at the age of 2 years play a leading role in the circulation and maintenance of otodectosis.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Bornstein, S. Sarcoptes scabiei infections of the domestic dog, red fox and pig. Clinical and serodiagnostic studies: PhD Dissertation / S. Bornstein // Swedish University of Agricultural Sciences, and the National Veterinary Institute. – Uppsala, Sweden, 1995. – 127 p.

2.Miller, D. S., Efficacy and safety of selamectin in the treatment of Otodectes cynotis infestation in domestic ferrets / D. S.

Miller, R. P. Eagle, S. Zabel, R. Rosychuk, T. W. Campbell // The Veterinary Record. – 2006. – 159 (22). – pp. 748. doi: 10.1136/vr.159.22.748. PMID: 17127760.
3.Sueur, C. L. Efficacy and Safety of the Combination Imidacloprid 10 % / moxidectin 1.0 % Spot-on (Advocate® Spot-on for Small Cats and Ferrets) in the Treatment of Ear Mite Infection (Otodectes cynotis) in Ferrets / C. Le Sueur, S. Bour, R. Schaper // Parasitol Res. – 2011. – 109. – P. 149-156. doi: 10.1007/s00436-011-2411-7. PMID: 21739384.
4.Давлетшин, А. Н. Физиологическое состояние клещей O. cynotis после скармливания их хозяевам макроциклических лактонов /А. Н Давлетшин, И. П Калашников // Проблемы энтомологии и арахнологии: сборник научных трудов ВНИИВЭА. – Тюмень. – 2012. – Вып. 44. – С. 42-44.
5.Королев, Б. А. Применение акарицидов нового поколения в лечении отодектозной инвазии песцов / Б. А. Королев М. А. Левченко А. Н. Давлетшин Ю. В. Кошевко // Кролиководство и звероводство. – 2013. – №4. – С. 19-21.
6.Арисов, М. В. Эффективность нового комплексного препарата при лечении отодектоза лисиц на основании данных гистологического исследования кожи / М. В. Арисов, Е. Н. Индюхова, А. А. Антипов // Российский паразитологический журнал. – 2016. – №1. – С. 67-75.
7.Лунева, Н. А. К вопросу борьбы с ушным клещом у кроликов / Н. А. Лунева // Инновационные тенденции развития российской науки: Материалы XIII Международной научно-практической конференции молодых ученых. – Красноярск. – 2020. – С. 80-82.
8.Кузнецов, Ю. Е. Эффективность антгельминтика Эпримек на песцах / Ю. Е. Кузнецов, А. А. Смирнов, Э. Б. Никонова // Ветеринария. – 2016. – № 1. – С. 29-30.
9.Kočišová, A., Ectoparasitic species from red foxes (Vulpes vulpes) in East Slovakia / A. Kočišová, P. Lazar, V. Letková, J. Čurlík, M. Goldová // VETERINARSKI ARHIV. – 2006. – 76. – pp. 59-63.
10.Майоров, А. И. Пути распространения и места локализации зудней на теле лисиц и песцов с учётом возраста животных / А. И. Майоров // Кролиководство и звероводство. – 2015. – № 4. – С. 30-31.
11.Briceño, C. Ear mites, Otodectes cynotis, on wild foxes (Pseudalopex spp.) in Chile / C. Briceño, D. González-Acuña, J. E. Jiménez, M. L. Bornscheuer, S. M. Funk, L. A. Knapp // Journal of Wildlife Diseases. – 2020. – №56(1). – pp. 105-112. DOI: 10.7589/2018-10-247 PMID: 31329523.
12.Ятусевич, А. И., Отодектоз пушных зверей и меры борьбы с ним / А. И. Ятусевич, Л. И. Рубина // Ветеринарная медицина Беларуси. – 2001. – №1. – С. 21-22.
13.Пучик, Ю. А. Профилактика паразитарных заболеваний пушных зверей в Калининградской области / Ю. А. Пучик, А. Б. Муромцев // Дни науки: Материалы межвузовской научно-технической конференции студентов и курсантов на базе ФГБОУ ВО "Калининградский государственный технический университет". – Калининград. – 2018. – С. 201-205.
14.Беклемишев, В. Н. Биоценологические основы сравнительной паразитологии / В. Н. Беклемишев. – Москва: Наука, 1970. – 507 с.

REFERENCES

1.Bornstein, S. Sarcoptes scabiei infections of the domestic dog, red fox and pig. Clinical and serodiagnostic studies: PhD Dissertation / S. Bornstein // Swedish University of Agricultural Sciences, and the National Veterinary Institute. – Uppsala, Sweden, 1995. – 127 p.
2.Miller, D. S., Efficacy and safety of selamectin in the treatment of Otodectes cynotis infestation in domestic ferrets / D. S. Miller, R. P. Eagle, S. Zabel, R. Rosychuk, T. W. Campbell // Vet Rec. 2006 Nov 25;159(22):748. doi: 10.1136/vr.159.22.748. PMID: 17127760.
3.Sueur, C. L. Efficacy and Safety of the Combination Imidacloprid 10 % / moxidectin 1.0 % Spot-on (Advocate® Spot-on for Small Cats and Ferrets) in the Treatment of Ear Mite Infection (Otodectes cynotis) in Ferrets / C. Le Sueur, S. Bour, R. Schaper // Parasitol Res. 2011 Aug;109 Suppl 1:S149-

156. doi: 10.1007/s00436-011-2411-7. PMID: 21739384.

4. Davletshin, A. N. Physiological state of O. cynotis ticks after feeding their hosts with macrocyclic lactones / A. N Davletshin, I. P Kalashnikov // Problems of entomology and arachnology: collection of scientific works of VNIIVEA. - Tyumen. 2012: 44: 42-44.

5. Korolev, B. A. The use of new generation acaricides in the treatment of otodectic infestation of arctic foxes / B. A. Korolev M. A. Levchenko A. N. Davletshin Yu. V. Koshevko // Rabbit breeding and fur farming. 2013: 4: 19-21.

6. Arisov, M. V. The effectiveness of a new complex drug in the treatment of fox otodectosis based on data from a histological examination of the skin / M. V. Arisov, E. N. Indyukhova, A. A. Antipov // Russian Journal of Parasitology. 2016: 1: 67-75.

7. Luneva, N. A. On the issue of combating ear mites in rabbits / N. A. Luneva // Innovative trends in the development of Russian science: Materials of the XIII International Scientific and Practical Conference of Young Scientists. – Krasnoyarsk. 2020: 80-82.

8. Kuznetsov, Yu. E. Efficiency of the anthelmintic Eprimek on Arctic foxes / Yu. E. Kuznetsov, A. A. Smirnov, E. B. Nikonova // Veterinary Medicine. 2016: 1: 29-30.

9. Kočišová, A., Ectoparasitic species from red foxes (Vulpes vulpes) in East Slovakia / A. Kočišová, P. Lazar, V. Letková, J. Čurlík, M. Goldová //VETERINARSKI ARHIV. 2006: 76: 59-63.

10. Mayorov, A.I. Paths of distribution and places of localization of itches on the body of foxes and arctic foxes, taking into account the age of the animals / A.I. Mayorov // Rabbit breeding and fur farming. 2015: 4: 30-31.

11. Briceño, C. Ear mites, Otodectes cynotis, on wild foxes (Pseudalopex spp.) in Chile / C. Briceño, D. González-Acuña, J. E. Jiménez, M. L. Bornscheuer, S. M. Funk, L. A. Knapp // J Wildl Dis. 2020 Jan;56(1):105-112. Epub 2019 Jul 22. DOI: 10.7589/2018-10-247 PMID: 31329523.

12. Yatusevich, A.I., Otodectosis of fur-bearing animals and measures to combat it / A.I. Yatusevich, L.I. Rubina // Veterinary Medicine of Belarus. 2001: 1: 21-22.

13. Puchik, Yu. A. Prevention of parasitic diseases of fur-bearing animals in the Kaliningrad region / Yu. A. Puchik, A. B. Muromtsev // Science Days: Materials of the interuniversity scientific and technical conference of students and cadets on the basis of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Kaliningrad State Technical university."Kaliningrad. 2018: 201-205.

14. Beklemishev, V. N. Biocenological foundations of comparative parasitology / V. N. Beklemishev. – Moscow: Nauka, 1970. – 507 p.

УДК: 595.121:597.552.51
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.57

ПАРАЗИТИЧЕСКАЯ ЦЕСТОДА *CYATHOCEPHALUS TRUNCATUS* КАК ИНДИКАТОР ЛОКАЛИЗАЦИИ САМОНАТУРАЛИЗОВАВШЕЙСЯ ПОПУЛЯЦИИ АМЕРИКАНСКОГО ГОЛЬЦА (*SALVELINUS FONTINALIS*) В БАССЕЙНЕ Р. СТРЕЛКИ

Новиков А.А.[1,2] – науч. сотр. лаборатории селекции рыб, асс. каф. аквакультуры и болезней рыб; **Семененко Н.А.**[2*] – асс. каф. организации, экономики и управления ветеринарным делом

[1] ФСГЦР филиал ФГБУ «Главрыбвод»
[2] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* nat_sima@mail.ru

Ключевые слова: *аквакультура*, *цестода, циатоцефалез, эпизоотия, американский голец, Cyathocephalus truncatus.*
Key words: *aquaculture, cestode, cyatocephalosis, epizootic, american char, Cyathocephalus truncatus.*

Поступила: 17.01.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ
Северо-Западный федеральный округ занимает лидирующие позиции в товарном рыбоводстве страны. В частности, Ленинградская область располагается на втором месте среди производителей товарной рыбы в регионе, рыбохозяйственный комплекс которой включает в себя 200 предприятий. Основным объектом аквакультуры является радужная форель (97,1%). Нередко в рыбоводных хозяйствах возникают паразитарные болезни. Для постановки диагноза проводят комплексное обследование, включающее в себя сбор эпизоотологических данных, клинический осмотр, диагностическое вскрытие и лабораторные исследования. Данная статья описывает случай эпизоотии циатоцефалеза в условиях действующего рыбоводного хозяйства. Возбудителем болезни является цестода *Cyathocephalus truncatus*, относящаяся к отряду Pseudophyllidea, сем. Cyathocephalidae. Он паразитирует в пилорических придатках в основном лососевых рыб. Развитие *C. truncatus* происходит с участием одного промежуточного хозяина, которым являются рачки-бокоплавы: *Rivulogammarus pulex, R. spinicaudatum, Pontogammarus bosniacus, Pontopereia hoi, Pallasea quadrispinosa*. Для выяснения причин заражения молоди радужной форели была выполнена оценка зараженности окончательных и промежуточных хозяев, сезонности инвазии в 2021-2022 гг., а также контрольные обловы головного пруда и Мельничного ручья, относящегося к бассейну реки Стрелки. В ходе исследования были выловлены 16 разновозрастных особей американского гольца, 6 из них были подвергнуты частичному паразитологическому вскрытию на предмет зара-

женности циатоцефалезом. В результате исследования у всех особей были обнажены цестоды *C. truncatus* в количестве от 2 до 5. Следовательно, отсутствие случаев прогенеза у процеркоидов промежуточных хозяев рачков-гаммарид, заражение паразитической цестодой как окончательных, так и промежуточных хозяев позволило сделать вывод о присутствии в водоподающей системе предприятия окончательных хозяев паразита – лососевидных видов рыб. Таким образом, паразитическая цестода поспособствовала самонатурализации популяции американского гольца, воспроизводство и выращивание которого в данном водоисточнике завершилось в 1970-х годах, и до настоящего времени считалась утраченной.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Cyathocephalus truncatus – паразит преимущественно лососевидных видов рыб, встречающийся на территории Российской Федерации на всем протяжении обитания окончательных хозяев. Промежуточные хозяева – гаммариды (сем. Amphipoda). По данным Кулькиной Л. В. (1990) возможно образование зрелых гамет у процеркоидов паразита (прогенез) [2]. У рыб цестода локализуется в пилорических придатках кишечника, вызывая их воспаление и истощение. В случае сильной инвазии возможно образование прободных язв ЖКТ и даже разрыв брюшной полости. Низкая интенсивность заражения значительного патологического процесса не вызывает, однако способна вызывать снижение темпа роста у молоди и плодовитости у взрослых рыб [4]. При осуществлении регулярной ихтиопатологической практики в условиях действующего рыбоводного хозяйства Ленинградской области в зимний период была отмечена инвазия молоди радужной форели *(Oncorhynchus mykiss)* паразитической цестодой *C. truncatus.* Рыба выращивалась в условиях прямоточных бассейнов, в которые самотеком попадала вода из системы головных прудов, питаемых Мельничным ручьем (бассейн реки Стрелки). Вместе с током воды в бассейн регулярно попадали бокоплавы (*Gammarus pulex*).

Несмотря на то что циатоцефалез не относится к особо опасным болезням рыб, высокая зараженность цестодами данного вида может привести к существенному снижению темпов роста и улучшению качества рыбопосадочного материала. Поэтому для разработки дальнейших эффективных профилактических и лечебных мероприятий было необходимо выяснить условия существования очага циатоцефалеза в водоисточнике ФСГЦР.

Для выполнения поставленной цели необходимо было выполнить следующие задачи:

*1.*Изучить сезонность заражения промежуточных (*G. pulex*) и окончательных (*O. mykiss*) хозяев паразитической цестодой *C. truncatus.*

*2.*Выяснить возможность прогенетических стадий у процеркоидов *C. truncatus* у гаммарид в Мельничном ручье.

*3.*Определить наличие и видовой состав рыб, обитающих в Мельничном ручье и головных прудах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Для того, чтобы изучить эпизоотию циатоцефалеза в условиях рыбоводного хозяйства, были исследованы методом частичного паразитологического вскрытия сеголетки радужной форели (*O. mykiss*), выращиваемые в прямоточных бассейнах. Рачки амфиподы (*G. pulex)* – промежуточные хозяева паразита, попадающие с током воды в рыбоводные бассейны, отлавливались сачком, установленным перед источником подачи воды и исследовались компрессионным методом.

В ходе выполнения исследования был осуществлен спуск головного пруда и облов Мельничного ручья при помощи электролова. В результате контрольного облова удалось отобрать 16 экземпляров американского гольца *(Salvelinus fontinalis),* из них 6 представителей исследовались методом частичного паразитологи-

ческого вскрытия. Для остальных рыб была проведена бонитировка и определен возраст по склеритам чешуи. Общий объем биологического материала, собранного в 2021-2022 гг., представлен в таблице 1.

Таблица 1 – Объем биологического материала, собранного в 2021-2022 гг.

Вид / кол-во обследованных гидробионтов (экз.)	Период исследования	Место сбора материала
Oncorhynchus mykiss / 195	Декабрь-апрель (2021) Декабрь– июль (2022)	1 цех ФСГЦР
Gammarus pulex / 1775	Декабрь– июль (2021, 2022)	1 цех ФСГЦР
Salvelinus fontinalis / 16	Июль (2022)	Мельничный ручей (р. Стрелка)

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате выполнения поставленной цели и задач было установлено, что зараженность бокоплавов процеркоидами *C. truncatus* приурочена к зимнему периоду, в это же время происходит инвазия основных хозяев. Интенсивность инвазии при этом практически не имела сезонных изменений на протяжении периода исследования и сохраняла данную тенденцию. При этом зараженность сеголетков радужной форели за одинаковый период исследования в 2021 и 2022 гг. существенно возросла, что свидетельствует об интенсивном поедании бокоплавов. В осенний период у плероцеркоидов гельминта массово созревали гаметы, после чего рыба полностью освобождалась от паразитов.

За 2 года исследования эпизоотии не удалось обнаружить ни одного случая прогенеза у процеркоидов *C. truncatus,* паразитирующих в бокоплавах. Совокупность этих факторов указывала на наличие в головном пруду лососевидных видов рыб, являющихся основными окончательными хозяевами паразита, что недопустимо с эпизоотологической и рыбохозяйственной точки зрения. Сезонность инвазии промежуточных и окончательных хозяев представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Сезонность инвазии окончательных и промежуточных хозяев паразита

Период исследования	Кол-во исследованных бокоплавов (экз.) / интенсивность инвазии в 2021 г.	Кол-во исследованных бокоплавов (экз.) / интенсивность инвазии в 2022 г.	Кол-во исследованных рыб / интенсивность инвазии в 2021 г.	Кол-во исследованных рыб / интенсивность инвазии в 2022 г.
Декабрь-февраль	339 / 0,03	342 / 0,006	45 / 0,5	15 / 0,75
Март-апрель	162 / 0,006	164 / 0,006	30 / 4	15 / 7
Апрель-май	-	589 / 0,05	30 / 7	15 / 3
Июнь-июль	-	179 / 0,006	30 / 7	15 / 0,06
Сентябрь-октябрь	-	-	30 / 0	15 / 0

С целью выявления в водоподающей системе лососевидных видов рыб – окончательных хозяев *C. truncatus,* был осуществлён спуск головного пруда и облов Мельничного ручья с помощью электролова. В результате облова были пойманы 16 разновозрастных особей американского гольца (*S. fontinalis*) (Рис. 1).

Шесть рыб были исследованы методом частичного паразитологического вскрытия для выяснения зараженности циатоцефалезом, 10 возвращены в естественную среду обитания. В результате у 100% рыб в пилорических придатках удалось обнаружить от 2 до 5 цестод *C. truncatus,* что указывает на то, что основным переносчиком паразита в условиях водоподающей системы данного рыбоводного хозяйства является американский голец (*S. fontinalis).* Согласно полученным морфометрическим данным, все представленные в пробе рыбы относятся к младшим возрастным группам (0+ и 1+) что указывает на способность популяции самовоспроизводиться в настоящее время.

Следует отметить, что воспроизводство и выращивание данного объекта на базе Ропшинских прудов по данным Кудерского Л. А., завершилось в 1970-х годах, и до настоящего времени популяция считалась утраченной [1]. Рыба, которая ушла в дикую среду обитания, успешно самонатурализовалась в Ропшинских ручьях и реке Стрелке.

Для дальнейшей профилактики в условиях действующего рыбоводного хозяйства на краны водоподающей системы были установлены сачки с крупным мельничным газом, препятствующим попаданию промежуточных хозяев – гаммарид в рыбоводные емкости. После этого случаи инвазии молоди циатоцефалезом полностью прекратились. Выявило.

Рисунок 1 – Американский голец (Salvelinus fontinalis) из Мельничного ручья.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Факт заражения паразитической цестодой *C. truncatus* как окончательных, так и промежуточных хозяев в условиях действующего рыбоводного хозяйства при отсутствии случаев прогенеза у процеркоидов промежуточных хозяев рачков -гаммарид позволил нам сделать вывод о присутствии в водоподающей системе предприятия окончательных хозяев паразита – лососевидных видов рыб.

После спуска и облова головного рыбоводного пруда нами были отобраны 16 особей молоди американского гольца *S. fontinalis,* часть из которых была заражена паразитом. Однако нахождение рыб в водоподающей системе и головных прудах рыбоводных предприятий является серьезным нарушением рыбоводной биотехники. Вероятно, рыбы, которые покинули рыбоводные пруды, самостоятельно проникли в Мельничный ручей до индустриализации предприятия и появления гидротехнических сооружений.

Таким образом, паразитическая цестода *C. truncatus* послужила индикатором существования уникальной для России самонатурализовавшейся популяции американского гольца в бассейне реки Стрелки (Мельничном ручье) Ленинградской области.

PARASITIC CESTODE CYATHOCEPHALUS TRUNCATUS AS AN INDICATOR OF LOCALIZATION OF SELF-NATURALIZED POPULATION OF AMERICAN CHAR (SALVELINUS FONTINALIS) IN THE STRELKA RIVER BASIN

Novikov A.A.[1,2] - Researcher at the Laboratory of Fish Breeding, Ass. department aquaculture and fish diseases; **Semenenko N.A.**[2*] – ass. department organization, economics and management of veterinary business

[1] FSGCR branch of the Federal State Budgetary Institution "Glavrybvod"

[2] Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "St. Petersburg State University of Veterinary Medicine"

*nat_sima@mail.ru

ABSTRACT

The Northwestern Federal District holds a leading position in the commercial fish farming of the country. In particular, the Leningrad Region occupies the second place among producers of commercial fish in the region, the fisheries complex of which includes 200 enterprises. The main object of aquaculture is rainbow trout (97.1%). Parasitic diseases often occur in fish farms. To make a diagnosis, a comprehensive examination is carried out, including the collection of epizootological data, a clinical examination, a diagnostic autopsy and laboratory tests. This article describes a case of cyatocephalosis epizootics in an operating fish farming. The causative agent of the disease is Cyathocephalus truncatus cestode, belonging to the order Pseudophyllidea, family. Cyathocephalidae. It parasitizes the pyloric appendages of mainly salmonid fish. The development of C. truncatus occurs with the participation of one intermediate host, which are crustaceans: Rivulogammarus pulex, R. spinicaudatum, Pontogammarus bosniacus, Pontopereia hoi, Pallasea quadrispinosa. To determine the causes of infection of rainbow trout juveniles, an assessment of the infestation of final and intermediate hosts, the seasonality of invasion in 2021-2022, as well as control catches of the head pond and Mill Creek belonging to the Strelka River basin was performed. During the study, 16 individuals of different ages of American char were caught, 6 of them were subjected to a partial parasitological autopsy for infection with cyatocephalosis. As a result of the study, C. truncatus cestodes were exposed in all individuals in an amount from 2 to 5. Consequently, the absence of cases of progenesis in procercoids of intermediate hosts of gammarid crustaceans, infection with parasitic cestode of both final and intermediate hosts allowed us to conclude that the final hosts of the parasite, salmon-like fish species, are present in the enterprise's water supply system. Thus, the parasitic cestode contributed to the self-naturalization of the American char population, the reproduction and cultivation of which in this water source ended in the 1970s, and has been considered lost until now.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Кудерский, Л. А. Американская палия в ручьях Ленинградской области / Л. А. Кудерский // Проблемы разведения лососевых рыб. – 1984. – № 220. – С. 97-117.

2. Кулькина, Л. В. Прогенетическая цестода Cyathocephalus truncatus у гаммарусов Gammarus hirsutus из водоемов западного Тянь-Шаня / Л.В. Кулькина // Паразитология. - 1900. – № 3. – С. 232-234.

3. Паразитарные болезни рыб: учебное пособие / Л. М. Белова, Н. А. Гаврилова, А. Н. Токарев [и др.]. — Санкт-Петербург: СПбГУВМ, 2019. – 40 с.

4. Паразитологическое исследование рыб: методическое пособие / Н. Б. Чернышёва, Е. В. Кузнецова, В. Н. Воронин, Ю. А. Стрелков. – Санкт-Петербург: ГосНИОРХ, 2009. – 20 с.

5. Померанцев, Д. А. Актуальные вопросы состояния аквакультуры в Ленинградской области / Д.А. Померанцев, Н. А. Семененко // Роль и место инноваций в сфере агропромышленного комплекса. – Курск: Курская государственная сельскохозяйственная академия им. профессора И.И. Иванова, 2020. – С. 146-149.

REFERENCES

1. Kudersky, L. A. American palia in streams of the Leningrad region / L. A. Kudersky // Problems of breeding salmon fish. – 1984. – № 220. – P. 97-117 (In Russ.)
2. Kulkina, L. V. Progenetic cestode Cyathocephalus truncatus in gammarus Gammarus hirsutus from reservoirs of the western Tien Shan / L. V. Kulkina // Parasitology. – 1900. – № 3. – P. 232-234 (In Russ.)
3. Parasitic diseases of fish: textbook / L. M. Belova, N. A. Gavrilova, A. N. Tokarev [etc.]. — St. Petersburg: SPbGUVM, 2019. – 40 p (In Russ.)
4. Parasitological study of fish: methodological manual / N. B. Chernysheva, E. V. Kuznetsova, V. N. Voronin, Yu. A. Strelkov. - St. Petersburg: GosNIORH, 2009. – 20 p (In Russ.)
5. Pomerantsev, D. A. Current issues of the state of aquaculture in the Leningrad region / D.A. Pomerantsev, N. A. Semenenko // The role and place of innovation in the agricultural sector. – Kursk: Kursk State Agricultural Academy named after. Professor I.I. Ivanova, 2020. – pp. 146-149 (In Russ.)

УДК: 615.285:616.995.428:636.2
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.63

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АКАРИЦИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ПСОРОПТОЗЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Гаврилова Н.А. * – д-р ветеринар. наук, проф., проф. каф. паразитологии им В. Л. Якимова (ORCID 0000-0001-5651-5976).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* nadezhda.gavrilova65@mail.ru

Ключевые слова: крупный рогатый скот, псороптоз, макроциклические лактоны, пиретроид, комбинированный препарат, эффективность

Key words: cattle, psoroptosis, macrocyclic lactones, pyrethroid, combination drug, effectiveness

Поступила: 25.02.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты применения акарицидов группы макроциклических лактонов и комплексного препарата, содержащего дельтаметрин, дифлубензурон и пиперонилбутоксид, при псороптозе крупного рогатого скота. Производственные опыты проведены в хозяйстве по откорму быков породы абердин-ангус. Сформировали четыре группы по 10 животных по принципу аналогов. Животным 1-й группы подкожно в область шеи вводили препарат «Мерадок» (доранектин 1%), 2-ой – «Ивермек» (ивермектин 1%) из расчета 1,0 мл препарата на 50 кг массы животного. Животным 3-ей группы назначали «Дельцид 7,5» путем нанесения с помощью дозирующего устройства на кожу спины от головы до основания хвоста вдоль позвоночника однократно в дозе 15 мл/100 кг живой массы животного. В 4-ой группе животных не обрабатывали акарицидными средствами (контрольная группа). Установили, что применение однократно препаратов группы макроциклических лактонов позволяет уничтожать только личиночные, нимфальные и имагинальные фазы клещей рода *Psoroptes,* не разрушая все яйца клещей. На 7-ой день после применения препарата «Дельцид 7,5» в соскобах также были обнаружены яйца клещей, но на 14, 21 и 28- ой день с начала лечения животных не выявлены имагинальные и ларвальные фазы, а также яйца клещей. К 28 дню у животных кожа на пораженных участках была без уплотнений и складчатости, шерстный покров восстанавливался от периферии к центру пораженного участка. Использование комплексного препарата «Дельцид 7,5» в лечении крупного рогатого скота при псороптозе предпочтительно, так как обеспечивают акарицидное действие на преимагинальные фазы клеща, блокируя активность ферментов, разрушающих действие препаратов. Учитывая способность клещей формировать резистентность к применяемым акарицидам, следует качество противоакарицидных обработок животных контролировать микроскопией соскобов кожи и при получении положительных результатов проводить ротацию препаратов.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Большой ассортимент акарицидных препаратов, имеющих в своем составе действующие вещества различных химических групп: фосфорорганические соединения (ФОС), производные карбаминовой кислоты (карбаматы), синтетические пиретроиды, фенилпиразолы, ювенальные гормоны, изоксазолины, макроциклические лактоны и др., обусловлен необходимостью их ротации с целью предотвращения формирования резистентности у клещей. В основе работы акарицидов лежит контактный или кишечный способ нервнопаралитического действия членистоногих.

В производственных условиях для лечения животных при акарозах применяют преимущественно препараты групп синтетических пиретроидов и макроциклических лактонов.

Пиретроиды воздействуют на натриевые каналы мембран нервных клеток членистоногих, вызывая их деполяризацию [1, 2]. В натриевых каналах пресинаптических мембран они ингибируют действие системы транспорта кальция и оказывают влияние на функционирование нейросекреторных клеток клеща [3, 4]. Признаки интоксикации наступают быстро, проявляясь потерей координации движений, судорогами, параличом [5]. Токсичность пиретроидов для членистоногих связана не только с их нейрофизиологическим действием, но и с особенностями их метаболизма в организме. Характер и скорость метаболизма зависят от структуры пиретроида, его пространственного строения и различаются у разных видов и популяций членистоногих [6].

Острая токсичность макроциклических лактонов для членистоногих обусловлена действием на нервно-мышечный синапс. Они стимулируют открытие глутамат- и ГАМК-зависимых хлор-ионных каналов в постсинаптической мембране мышечных клеток, блокируют нервную передачу и вызывают паралич [7].

Однако, в эндоплазматическом ретикулуме и митохондриях членистоногих локализована ферментативная система, которая разрушает действие акарицидных препаратов. Основным составляющим ее элементом является цитохром зависимые монооксигеназы. За счет усиления транскрипции или генной амплификации увеличивается монооксигеназная активность, что приводит к повышению уровня резистентности членистоногих к применяемым акарицидам [8].

Началом патогенного действие любого акарицида на членистоногих является его связывание с периферическими рецепторами, локализованными в плазматических мембранах клеток. Проникая через покровы клеща, действующее вещество акарицида распространяется в межклеточных жидкостях организма, запуская механизм патогенного воздействия, который влечет необратимый критический сдвиг от нормы количественного соотношения содержания электролитов в жидкостях организма [9]. На начальном этапе патогенеза наблюдается нарушение тесно взаимосвязанных процессов клеточного метаболизма – процессов окислительного фосфорилирования в митохондриях, функционирования ионных каналов, интенсивности цитоплазматического обмена веществ и др.

Проявление резистентности членистоногих к акарицидам зависит от усиления способности различных компенсаторных биохимических реакций, таких как повышение активности карбоксилэстеразы или монооксигеназ, способствовать восстановлению нарушаемых в течение развития патогенеза жизненно важных функций

Акарициды, обладая губительным действием на имагиналые, нимфальные и личиночные фазы, не обладают 100%-ным овоцидным действием. Оценка терапевтичекой эффективности препарата важна не только для получения желаемого лечебного эффекта, но и с точки зрения прогнозирования возможности формирования устойчивости к определенной группе акарицидов.

Целью работы стало сравнение акарицидного действия и терапевтической эффективности препаратов группы макро-

циклических лактонов и комплексного препарата, содержащего синтетический пиретроид, ингибитор хитина личинок членистоногих и блокатор активности ферментов монооксигеназ и карбоксиэстераз.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

На фидлотах по откорму крупного рогатого скота в Брянской области у животных с признаками зуда, утолщения и складчатости кожи в области шеи, груди, спины, крупа брали глубокие до появления сукровицы соскобы на границе здорового и пораженного участков кожи, предварительно нанеся на место скарификации 50% глицерин. Соскобы микроскопировали в производственных условиях, используя микроскоп Phenix XSP-36 (2000х).

Акариформных клещей идентифицировали по морфологическим признакам: форме тела, строению гнатосомы, размерам стерженьков с амбулакрами.

Сформировали четыре группы по принципу аналогов, в которые входило по 10 быков породы абердин-ангус, весом от 500 до 550 кг с подтвержденным диагнозом – псороптоз. Быки подопытных и контрольной групп содержались каждая в отдельном коралле. Животным 1-ой и 2-й групп применяли препараты группы макроциклических лактонов. Быкам 1-й группы подкожно в область шеи вводили препарат «Мерадок» (дорамектин 1%), 2-ой – препарат «Ивермек» (ивермектин 1%). Препараты применяли животным из расчета 1,0 мл препарата на 50 кг массы животного.

Животным 3-ей группы назначали комплексный препарат – «Дельцид 7,5», содержащий в 1 мл в качестве действующих веществ дельтаметрин – 7 ,5 мг, дифлубензурон – 3 мг и пиперонилбутоксид – 1,5 мг. Обработку животных проводили в хорошо проветриваемом помещении, путем нанесения препарата с помощью дозирующего устройства на кожу спины от головы до основания хвоста вдоль позвоночника однократно в дозе 15 мл/100 кг живой массы животного.

В 4-ой группе животных не обрабатывали акарицидными средствами (контрольная группа).

Через 7, 14, 21,28 дней брали соскобы для микроскопии с целью контроля акарицидного действия препаратов путем обнаружения яиц и фаз развития акриформных клещей.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

После осмотра быков, находящихся на откорме круглогодично на выгульном содержании, выявили животных с признаками зуда, утолщения и складчатости кожи в области шеи, груди, спины, крупа (рис.1).

Микроскопией соскобов кожи был подтвержден диагноз – псороптоз. Обнаруженные имели овальную форму тела, гнатосому колюще-сосущего типа, амбулакры, расположенные на длинных сегментированных стерженьках, что позволило идентифицировать их до рода Psoroptes (Gervais, 1841) (рис.2).

Рисунок 1 – Поражение кожного покрова крупного рогатого скота при псороптозе (фото: оригинал).

Рисунок 2 – Самка клеща рода Psoroptes (фото: оригинал, ув. х 40).

После инъекционного введения макроциклических лактонов однократно, независимо от действующего вещества (дорамектин и ивермектин) были получены идентичные результаты. На 7-ой день после обработки животных в соскобах были обнаружены единичные яйца клещей, на 14-й день – личинки и нимфы, на 21– личинки, нимфы и имаго, на 28 – имаго и все фазы развития.

После однократного применения пурон комплексного препарата, содержащего дельтаметрин, дифлубензурон и пиперонилбутоксид, на 7-ой день в соскобах были обнаружены яйца клещей. В дальнейшем на 14, 21 и 28- ой день с начала лечения животных в соскобах не выявлены имагинальные и ларвальные фазы, а также яйца клещей. К 28 дню у животных кожа на пораженных участках была без уплотнений и складчатости, шерстный покров восстанавливался от периферии к центру пораженного участка.

У животных контрольной группы наблюдали расширение границ алопеции, утолщенную, складчатую кожу. Поверхность складок была покрыта корками серого цвета. Животные испытывали зуд, расчесывали и лизали пораженные участки кожи. Во всех соскобах обнаружены яйца псороптесов и активно передвигающиеся имаго, нимфы и личинки клещей.

Результаты микроскопии соскобов кожи крупного рогатого скота представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты микроскопии соскобов кожи крупного рогатого скота до и после применения акарицидных препаратов

№ группы	7 день				14 день				21 день				28 день			
	0	L	N	I	0	L	N	I	0	L	N	I	0	L	N	I
группа 1	+	–	–	–	–	+	+	–	–	+	+	+	+	+	+	+
группа 2	+	–	–	–	–	+	+	–	–	+	+	+	+	+	+	+
группа 3	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
группа 4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: О – яйцо; L – личинка; N – нимфы; I– имаго; «+» – обнаружено; «–» – не обнаружено.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Применение однократно препаратов группы макроциклических лактонов «Мерадок», содержащего в качестве действующего вещества дорамектин и препарата «Ивермек», содержащего ивермектин, позволяет уничтожать только личиночные, нимфальные и имагинальные фазы клещей рода *Psoroptes*. Эти препараты не обладают 100% овоцидной активностью, которая, возможно сформировалась как следствие резистентности к данным акарицидам, которые длительное время применяют как средства специфической терапии при псороптозе в данном хозяйстве.

Препарат «Дельцид 7,5» оказывает выраженное терапевтическое действие, так как представляет собой комплекс действующих веществ различного механизма

действия. Дельтаметрин блокирует нервно-мышечную передачу нервных импульсов на уровне периферических нервных узлов, что приводит к неконтролируемой активности центральной нервной системы и гибели эктопаразитов. Дифлубензурон нарушает гормональные процессы, обеспечивающие синтез хитина в организме личинок членистоногих, что нарушает процесс линьки и вызывает образование нежизнеспособных форм и как следствие дальнейшие фазы развития клеща не формируются и популяция не сохраняется.

Пиперонилбутоксид является синергистом пиретроида. Блокируя активность ферментов монооксигеназ и карбоксиэстераз эктопаразитов, участвующих в детоксикации акарицидов, он улучшает проникновение пиретроида через кутикулу, усиливает его влияние на нервную систему членистоногого, ускоряет наступление паралича.

Учитывая способность клещей формировать резистентность к применяемым акарицидам, следует качество противоакарицидных обработок животных контролировать микроскопией соскобов кожи и при получении положительных результатов проводить ротацию препаратов. Целесообразно использование комплексного препарата «Дельцид 7,5» в лечении крупного рогатого скота при псороптозе, так как действующие вещества обеспечивают акарицидное действие на преимагинальные стадии, блокируют активность ферментов, разрушающих действие препаратов и снижают развитие резистентности членистоногих к ним.

THE EFFECTIVENESS OF ACARICIDAL DRUGS IN CASE OF PSOROPTOSIS OF CATTLE

Gavrilova N.A. * – D. vet. Sc., professor, prof. department parasitology named after V. L. Yakimov (ORCID 0000-0001-5651-5976).

FSBEIHE «Saint-Petersburg State University of Veterinary Medicine»

* nadezhda.gavrilova65@mail.ru

ABSTRACT

The report presents the results of acaricides using from the macrocyclic lactones group and complex drug administration which includes deltamethrin, diflubenzuron and piperonyl butoxide by psoroptic scab of cattle. There was research at the beef-producing farm (Aberdeen Angus breed). It was four groups (n=10 by each). Animals of the 1st experimental group have received «Meradoc» drug (doramectin 1%, subcutaneous introduction, the neck area), 2d experimental group – «Ivermec» drug (ivermectin 1%, 1 ml per 50 kg, subcutaneous introduction, the neck area), 3d experimental group – «Deltsid 7.5» by single dose (15 ml per 100 kg) by the application on skin vertebral from the head to the tail. The 4th group was control without acaricidal treatment. It was found the single using of macrocyclic lactones groups' drugs were destroyed only the larval, nymphal and imaginal phases of acarian *Psoroptes* without ticks' eggs extermination. The scraping was included ticks' eggs on 7th day after «Deltsid 7.5» drug using, but it wasn't detected any larval, imaginal phases and ticks' eggs on the 14th, 21st and 28th days after beginning of animal's treatment. Moreover, to the 28th days there were registered the hair restoration and the skin in affected areas without compaction and folding. The using of complex drug «Deltsid 7.5» is more effective treatment of psoroptic scab of cattle. This drug has the acaricidal effect on the preimaginal phases Acariformes. There were blocked the enzymes activity which destroy the drug's effect. To take on the Acariformes resistibility by acaricides it should be control the quality of anti-acaricidal treatments by microscopy of skin scrapings. The recommendation in the case of the positive result's getting is the treatment alternation.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Clark, J.M. Molecular detection of knockdown resistant-type mutations in insect / J.M. Clark // Books abstr. of the 10-th Intern. Congr. on the Chem. Crop. Protect. – Basel. – 2002. – Vol. 1. – P. 323.

2. Halos, L. Defining the concept of «tick

repellency» in veterinary medicine /L. Halos, G. Baneth, F. Beugnet et al. // Parasitology. – 2012. – Vol. 139, № 4. – P.419-423.
3. Vais, H. The molecular interactions of pyrethroid insecticides with insect and mammalian sodium channels / H. Vais, M.S. Williamson, A.L. Devonshire // Pest Manag. Sci. – 2001. – Vol. 57, № 10. – P. 877-888.
4. Scott, J. G. Evidence for two types of toxic actions of pyrethroids on susceptible and DDT-resistant German cockroaches / J.G. Scott, F. Matsumura // Pestic. Biochem. Physiol. – 1983. – Vol. 19, № 2. – P. 141-150.
5. Ruigt, G. S. F. Pyrethroids. In Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology / G.S.F. Ruigt, G.A. Kerkut, L.I. Gilbert // Pergamon Press, Oxford – 1985. – Vol. 12, № 7. – P. 183-262.
6. Рославцева, С. А. Механизмы действия инсектоакарицидов. Сообщение 1. Хлорорганические соединения (ДДТ, ГХЦГ), авермектины, фенилпиразолы, карбазаты, фосфорорганические соединения, карбаматы / С. А. Рославцева // Пест-Менеджмент. – 2013. – № 3(87). – С. 29-33. – EDN RNELQD
7. Barragry, T.B. A review of the pharmacology and clinical uses of ivermectin /T.B. Barragry // Can. Vet. J. – 1987. – Vol. 28, № 8. – P. 512-517.
8. Bass, Ch. Gene amplification and insecticide resistance / Ch. Bass, L., M. Field// Pest Manag. Sci. –2011. – V. 67(8): P. 886–890.
9. Сундуков, О. В. Этиология острой токсичности инсектоакарицидов и физиологические факторы, определяющие избирательность их действия на членистоногих / О. В. Сундуков. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская издательско-книготорговая фирма "Наука", 2012. – 183 с. – ISBN 978-5-02-037124-8. – EDN KUHZJD.

REFERENCES

1. Clark, J.M. Molecular detection of knockdown resistant-type mutations in insect / J.M. Clark // Books abstr. of the 10-th Intern. Congr. on the Chem. Crop. Protect. – Basel. – 2002. – Vol. 1. – P. 323.
2. Halos, L. Defining the concept of «tick repellency» in veterinary medicine /L. Halos, G. Baneth, F. Beugnet et al. // Parasitology. – 2012. – Vol. 139, № 4. – P.419-423.
3. Vais, H. The molecular interactions of pyrethroid insecticides with insect and mammalian sodium channels / H. Vais, M.S. Williamson, A.L. Devonshire // Pest Manag. Sci. – 2001. – Vol. 57, № 10. – P. 877-888.
4. Scott, J. G. Evidence for two types of toxic actions of pyrethroids on susceptible and DDT-resistant German cockroaches / J.G. Scott, F. Matsumura // Pestic. Biochem. Physiol. – 1983. – Vol. 19, № 2. – P. 141-150.
5. Ruigt, G. S. F. Pyrethroids. In Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology / G.S.F. Ruigt, G.A. Kerkut, L.I. Gilbert // Pergamon Press, Oxford – 1985. – Vol. 12, № 7. – P. 183-262.
6. Roslavtseva, S. A. Mekhanizmy deystviya insektoakaritsidov. Soobshcheniye 1. Khlororganicheskiye soyedineniya (DDT, GKHTSG), avermektiny, fenilpirazoly, karbazaty, fosfororganicheskiye soyedineniya, karbamaty / S. A. Roslavtseva // Pest-Menedzhment. – 2013. – № 3(87). – S. 29-33. – EDN RNELQD (In Russ.)
7. Barragry, T.B. A review of the pharmacology and clinical uses of ivermectin /T.B. Barragry // Can. Vet. J. – 1987. – Vol. 28, № 8. – P. 512-517.
8. Bass, Ch. Gene amplification and insecticide resistance / Ch .Bass, L., M. Field// Pest Manag. Sci. –2011. – V. 67(8): P. 886–890.
9. Sundukov, O. V. Etiologiya ostroy toksichnosti insektoakaritsidov i fiziologicheskiye faktory, opredelyayushchiye izbiratelnost ikh deystviya na chlenistonogikh / O. V. Sundukov. – Sankt-Peterburg: Sankt-Peterburgskaya izdatelsko-knigotorgovaya firma «Nauka», 2012. – 183 s. – ISBN 978-5-02-037124-8. – EDN KUHZJD. (In Russ.)

УДК: 619: 616.995.132
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.69

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КАПСУЛ ЛИЧИНОК ТРИХИНЕЛЛ В МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ БАРСУКОВ АМУРСКОЙ ОБЛАСТИ

Бондаренко Г.А.* – науч. сотр. (ORCID 0000-0001-8641-2388); **Соловьева И.А.** – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-3946-4593); **Трухина Т.И.**- канд. с./х. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-4882-6971).

ФГБНУ «Дальневосточный зональный научно-исследовательский ветеринарный институт»

*galy78@yandex.ru

Ключевые слова: *трихинеллы, морфология капсул, мышечная ткань, барсук, Амурская область.*
Key words: *trichinella, capsule morphology, muscle tissue, badger, Amur region.*

Финансирование: *Материалы подготовлены в рамках государственного задания*

Поступила: 31.01.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Одним из основных резервуаров возбудителя трихинеллеза в Амурской области является барсук, мясо и жир которого используется в лечебных целях или как деликатес. Данные по заражению барсуков и локализации личинок трихинелл в мышечной ткани барсуков неоднозначны. Морфологические особенности развития мышечной ткани барсуков связаны с образом жизни, что вероятно отражается на локализации личинок трихинелл в определенных мышцах. Цель – определение морфологических параметров капсул личинок трихинелл в мышечной ткани барсуков в условиях Амурской области. Материалом служила мышечная ткань скелетных мышц головы, грудных, тазовых конечностей, мышцы позвоночного столба и брюшной полости барсуков, добытых охотниками по лицензиям в Амурской области. Выявление личинок трихинелл осуществлялась методом компрессорной трихинеллоскопии и переваривании в ИЖС, согласно МУК 4.2.2747-10 «Методы санитарно-паразитологической экспертизы мяса и мясной продукции». Для каждой мышцы определяли интенсивность инвазии (лич./грамме). Морфологические показатели капсул личинок трихинелл определяли с помощью окуляр-микрометра. Индекс формы капсулы вычисляли по формуле V=D/L. Установлены наиболее инвазированные мышцы у барсуков и определен индекс формы капсул личинок трихинелл. Установлены районы природных очагов трихинеллеза в Амурской области. У барсуков наиболее инвазированными личинками трихинелл являются мышцы головы (челюстно-подъязычная мышца, мышечная ткань языка и жевательная мышца), которые предпочтительнее брать для диагностики трихинеллеза у данного вида животного. Установлена округлая форма капсул личинок трихинелл (индекс формы 0,72), характерная для барсуков семейства куньи. Определены районы природных очагов трихинеллеза – Михайловский, Серышевский, Благове-

щенский, Тамбовский и Ивановский административные районы Амурской области. Особое беспокойство вызывает заражение в южных, наиболее заселенных районах, где существует высокая вероятность перехода трихинеллеза из природных очагов в антропургические и синантропные.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Амурская область находится в южной части Дальневосточного федерального округа РФ, имеет несколько природных зон: хвойных лесов, смешанных или хвойно-широколиственных лесов и лесостепной зоны (или восточноазиатских прерий), обилие лесов предрасполагает разнообразие диких животных. В регионе развит охотничий промысел на копытных животных (дикий северный олень, кабан, кабарга, косуля и др.), добычу разных видов грызунов. Из семейства псовых охотятся на лисицу, енотовидную собаку и волка, на бурого медведя, рысь, а также множество видов из семейства куньи - выдра, горностай, колонок, ласка, норка американская, росомаха, соболь, солонгой, хорь степной, барсук. Известно, что многие виды охотничьих животных могут являться носителями трихинеллеза. Анализ данных проведенных за период 1960-2014 гг. показал, что если в период с 1960 по 1999 гг. основными резервуарами возбудителя трихинеллеза в Амурской области были популяции енотовидных собак, лисиц и бурых медведей, то в период последних лет популяции барсуков и лисиц [1]. При этом многие виды диких животных имеют тесный контакт с барсуками [2]. Например, лисица является биологическим конкурентом барсука, обитая в сходных с ним условиям. Барсук является важным объектом охоты для получения жира и мяса, который используется в лечебных целях или в мясных блюдах, как деликатес, а мясо лисицы в России в пищу не употребляют, ее ценность заключается только в полученной шкурке. По данным эпидемиологических исследований заражение трихинеллезом через мясо барсука в Амурской области происходит в 24,3 % случаев и является одним из основных источников заражения человека [3].Статистические данные по численности барсука, взятые из официальных открытых данных охотничьих учетов на территории Амурской области за 2021-2023 года, показали численность барсука, которая составляла от 3406 до 3881 особи, лимит добычи регламентируется количественно для каждого года и составляет от 7 до 10% от общей численности. Официальные статистические данные по проведенным исследованиям барсука на трихинеллез имеют лишь единичный характер. Для получения достоверных результатов исследований на трихинеллез мяса барсуков важное значение имеет отбор мышечной ткани. Известно, что барсук является норным животным и его мышцы адаптированы к образу жизни. Морфологически обладает удлиненным грудным отделом позвоночного столба, обеспечивающим мышцам плечевого пояса и дорсальным мышцам позвоночного столба преимущество в силе, обладает коротким поясничным и длинным крестцовым отделом, что ограничивает подвижность поясницы и обеспечивает адаптацию к рытью [4]. Также известно, что поперечнополосатая мышечная ткань барсука состоит из более крупных волокон по сравнению с лисицей, но менее развитой сетью кровеносных сосудов мышечной ткани [5]. Изучением локализации личинок трихинелл в мышечной ткани барсуков по данным литературного обзора занимались О. В. Масленникова, Е. И. Черезов, Л. Л. Караваев, А. В. Экономов с соавт., 2017, Трухина Т.И. с соавт.,2019, Жданова О. Б., Окулова, И. И., Успенский, А. В., Написанова, Л. А., 2022 [5,6,7]. Данные по локализации личинок трихинелл в мышечной ткани барсуков неоднозначны, поэтому существует необходимость по изучению расположения личинок трихинелл в мышцах барсуков для проведения достоверной диагностики трихинеллеза и предотвращению заражения человека.

Таким образом, целью наших исследований стало определение морфологических параметров капсул личинок трихи-

нелл в мышечной ткани барсуков в условиях Амурской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Работа выполнена на базе отдела паразитологии и зооэкологии ФГБНУ ДальЗНИВИ. Были исследованы барсуки, спонтанно зараженные трихинеллезом, добытые охотниками в различных районах Амурской области. Всего в течение 2017-2023 гг. исследовано 40 животных. Материалом для исследования была мышечная ткань скелетных мышц головы, грудных, тазовых конечностей, мышцы позвоночного столба и брюшной полости. Выбирали достаточно крупные мышцы, имеющие хорошее кровоснабжение. Выявление личинок трихинелл осуществлялась методом компрессорной трихинеллоскопиии перевариваем в ИЖС, согласно МУК 4.2.2747-10 «Методы санитарно-паразитологической экспертизы мяса и мясной продукции» [8]. Далее проводили оценку количественных показателей с определением интенсивность инвазии для каждой мышечной группы, для чего отбирали по 1 грамму мышечной ткани и проводили подсчет личинок трихинелл. От каждого животного окуляр-микрометром измерялось по 7-10 капсул личинок трихинелл. Определяли морфологические показатели капсул личинок трихинелл (длина L и ширина D капсулы), а затем устанавливали индекс формы капсул по формуле V=D/L для барсуков. Метрические данные определены в мкм. Обработка полученных данных произведена методами вариационной статистики с использованием стандартных компьютерных программ.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Установлено заражение личинками трихинелл у 20% исследованных барсуков. Зараженные барсуки были выловлены в 5 административных районах Амурской области – это Михайловский район экстенсивность инвазии барсуков составила 60,0%, Тамбовский 33,3%, Благовещенский 28,6%, Серышевский 22,2% и Ивановский 8,33% районы. Инвазированность различных мышечных групп у барсуков имели разные значения (таблица 1), но наибольшие показатели определялись в мышцах головы – челюстно-подъязычная мышца, мышечная ткань языка и жевательная мышца, что вполне логично для хищников, имеющих развитый челюстной аппарат, связанный с характером питания (откусывают, отрывают куски пищи). В мышцах грудных конечностей высокие показатели интенсивности инвазии отмечены в двуглавой мышце плеча и поверхностном сгибателе пальцев. Барсук роет норы с множеством отнорков, в процессе такого образа жизни имеет укороченные конечности, мышцы, усиленно работающие при такой нагрузке, имеют более высокие значения накопления личинок трихинелл. В мышцах брюшной полости наиболее высокие значения отмечены в диафрагме. В мышцах тазовых конечностей в краниальной большеберцовой мышце, далее с меньшими показателями идет двуглавая мышца бедра.

Далее провели морфометрию капсул личинок трихинелл у барсуков и определили индекс формы (таблица 2). Длина капсул при измерениях определялась в наименьших значениях 454,5±22,5 мкм (при $P< 0,001$), наибольшие значения составили 491,9±18,54 мкм (при $P< 0,001$), ширина капсулы в наименьшем значении составила 300,6±17,18 мкм, в наибольшем значении 395,4±14,72 мкм. Длина и ширина капсулы зависит, как от сроков заражения личинками трихинелл, так и от структуры мышечных клеток и у разных видов животных имеет отличия. Индекс формы варьировал у барсуков от 0,61 мкм до 0,82 мкм.

Обсуждение. Барсук – норное животное, большую часть времени проводит в норе, выкапывая целые лабиринты под землей. Роющие млекопитающие характеризуются более крепкими и относительно короткими длинными костями (для более коротких мышечных выходных рычагов) и более длинными мышечными входными рычагами [9]. Мышцы конечностей менее развиты, потому что преследуют добычу в норах, что объясняет невысокие

показатели интенсивности инвазии в данных группах мышц. На охоту барсук выходит ночью. Охотится на мышевидных грызунов и других мелких млекопитающих, являясь хищником, поэтому у барсуков, как и у других хищных животных, развиты мышцы подъязычного аппарата, что связано с высокой подвижностью костей нижней челюсти и зависит от типа питания (откусывают куски от добычи, не сильно пережевывая их) и образа жизни [10]. Полученные данные по распределению личинок трихинелл в мышцах головы и наиболее зараженной челюстно-подъязычной мышцей у барсуков соответствует степенью развитости подъязычного аппарата. Согласуются с данными ученых Масленниковой О.В., 2017; Трухиной Т.И. с соавт., 2019 [5,6]. По форме капсул личинок трихинелл ИФ 0,72 мкм (соответствует овальной форме), согласуется с данными Андриянова О.Н., 2014 полученными для семейства куньи, к которым относится барсук, [11] и частично согласуются с данными Ждановой О. Б. с соавт., 2022, которые определили, что капсулы личинок трихинелл у барсука встречаются как лимоновидной, так и овальной формы [12], что вероятно связано с исследованиями животных из разных географических зон, имеющих различия в генотипах Trichinella spiralis.

Таблица 1 – Зараженность личинками трихинелл разных мышечных групп барсуков (Meles meles)

№ п/п	Исследуемая группа мышц	Интенсивность инвазии в 1 г мышц (M±m) n=5
Мышцы головы и шеи		
1	Челюстно-подъязычная мышца	**110,0±30,85***
2	Ключично-плечевая мышца	15,0±5,43
3	Жевательная мышца	**54,5±4,29*****
4	Мышечная ткань языка	**76,7±19,67***
Мышцы позвоночного столба		
5	Длиннейшая мышца поясницы	13,8±5,02*
Мышцы грудных конечностей		
6	Дельтовидная мышца	21,4±6,91*
7	Двуглавая мышца плеча	28,0±9,82*
8	Трехглавая мышца плеча	17,0±5,64*
9	Поверхностный сгибатель пальцев	27,5±23,50
Мышцы грудной клетки		
10	Межреберные мышцы	15,5±4,69*
Мышцы брюшной полости		
11	Косая наружная мышца живота	13,0±3,97*
12	Диафрагма	30,0±10,64*
Мышцы тазовых конечностей		
13	Медиальная широкая мышца бедра	20,4±5,20*
14	Стройная мышца	14,4±34,45*
15	Двуглавая мышца бедра	23,8±6,41*
16	Краниальная большеберцовая мышца	30,4±14,45
	Средняя ИИ	30,4±7,50***

*Примечание: * - P< 0,05, *** - P< 0,001*

Таблица 2 – Морфологические показатели капсул личинок трихинелл у барсуков

№	Размеры капсул личинки		Индекс формы, мкм
	Длина капсулы, мкм	Ширина капсулы, мкм	
Барсук №1	491,9±18,54***	300,6±17,18***	0,61
Барсук №2	474,24±8,04***	354,30±11,21***	0,75
Барсук №3	480,8±20,12***	395,4±14,72***	0,82
Барсук №4	454,5±22,5***	326,6±11,84***	0,72
Х средняя	483,5±8,85***	327,45±26,85**	0,72±0,04***

Примечание: *** - P< 0,001

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Установлены наиболее инвазированные для барсуков мышцы головы (челюстно-подъязычная мышца, мышечная ткань языка и жевательная мышца), которые предпочтительнее брать для диагностики трихинеллеза у данного вида животного. Установлена округлая форма капсул личинок трихинелл (индекс формы 0,72), характерная для барсуков семейства куньи.

Определены районы природных очагов трихинеллеза – Михайловский, Серышевский, Благовещенский, Тамбовский и Ивановский административные районы Амурской области. Особое беспокойство вызывает заражение в южных, наиболее заселенных районах (Благовещенский, Тамбовский, Ивановский), где существует высокая вероятность перехода трихинеллеза из природных очагов в антропургические и синантропные. Важное значение здесь приобретает обязательная ветеринарно-санитарная экспертиза на трихинеллез всей полученной продукции охоты.

MORPHOLOGICAL FEATURES OF CAPSULES OF TRICHINELLA LARVAE IN THE MUSCLE TISSUE OF BADGERS IN THE AMUR REGION

Bondarenko G.A.* – Researcher, orcid.org/0000-0001-8641-2388; **Solovyeva I. A.** – PhD of Biological Sciences, Leading Researcher, orcid.org/0000-0003-3946-4593**; Trukhina T. I.** – PhD of Agricultural Sciences, Senior Researcher, orcid.org/0000-0003-4882-6971.

Far Eastern Zonal Research Veterinary Institute

*galy78@yandex.ru

Financing: *Materials prepared as part of a state assignment.*

ABSTRACT

One of the main reservoirs of the causative agent of trichinosis in the Amur region is the badger, whose meat and fat are used for medicinal purposes or as a delicacy. Data on infection of badgers and the localization of Trichinella larvae in the muscle tissue of badgers are ambiguous. The morphological features of the development of muscle tissue in badgers are associated with lifestyle, which is likely reflected in the localization of Trichinella larvae in certain muscles.

The goal is to determine the morphological parameters of capsules of Trichinella larvae in the muscle tissue of badgers in the conditions of the Amur region.

The material was the muscle tissue of the skeletal muscles of the head, pectoral, pelvic limbs, muscles of the spinal column and abdominal cavity of badgers, hunted by hunters under licenses in the Amur region. Detection of Trichinella larvae was carried out by compressor trichinoscopy and digestion in individual housing, according to MUK 4.2.2747-10 “Methods of sanitary and parasitological examination of meat and meat products.” For each muscle, the intensity of invasion was determined (personal/gram). Morphological parameters of capsules of Trichinella larvae were determined using an eyepiece micrometer. The capsule shape index was calculated using the formula V=D/L.

The most invaded muscles in badgers have been identified and the shape index of

capsules of Trichinella larvae has been determined. Areas of natural foci of trichinosis in the Amur region have been identified.

In badgers, the most infested Trichinella larvae are the head muscles (mylohyoid muscle, tongue muscle tissue and masticatory muscle), which are preferable to take for diagnosing trichinosis in this animal species. The rounded shape of the capsules of Trichinella larvae (shape index 0.72), characteristic of badgers of the weasel family, was established. The areas of natural foci of trichinosis have been identified - Mikhailovsky, Seryshevsky, Blagoveshchensky, Tambov and Ivanovo administrative districts of the Amur Region. Of particular concern is infection in the southern, most populated areas, where there is a high probability of the transition of trichinosis from natural foci to anthropurgic and synanthropic ones.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Соловьева И. А. Особенности формирования природных очагов трихинеллеза на территории Дальнего Востока / И. А. Соловьева, Г. А. Бондаренко, Т. И. Трухина, Д. А. Иванов // Дальневосточный аграрный вестник. – 2016. – № 4(40). – С. 126-130. https://elibrary.ru/item.asp?id=30682429

2. Ситникова Е. Ф. Посещение нор барсука другими млекопитающими и птицами / Е. Ф. Ситникова, М. А. Шумихина // Актуальные вопросы современной зоологии и экологии животных: Материалы Всероссийской научной конференции, посвященной 70-летнему юбилею кафедры «Зоология и экология» Пензенского государственного университета и памяти профессора В. П. Денисова (1932–1997), Пенза, 15–18 ноября 2016 года. – Пенза: Пензенский государственный университет, 2016. – С. 90. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=27550731

3. Бондаренко Г.А. Мониторинг трихинеллеза в южных субъектах Дальневосточного федерального округа / Г. А. Бондаренко, И. А. Соловьева, Т. И. Трухина, Д. А. Иванов // Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук. — 2022. – № 2(222). – С. 106-111. – DOI 10.37102/0869-7698_2022_222_02_9.https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48563556

4. Кот, Т. Ф. Видовые особенности морфологии шейного, грудного, поясничного и крестцового отделов позвоночного столба животных отряда Хищные / Т. Ф. Кот, А. В. Синицкий, И. М. Луцюк // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2019. – Т. 55, № 2. – С. 37-41. https://elibrary.ru/item.asp?id=39271593

5. Малышева, Е. С. Микроструктура мышечной ткани у некоторых представителей отряда хищных в сравнительно-видовом аспекте / Е. С. Малышева, Н. Д. Овчаренко // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2015. – № 2(124). – С. 65-68. https://elibrary.ru/item.asp?id=22913304

6.Масленникова, О. В. Аляриоз и трихинеллез барсуков в Вятско-Камском междуречье / О. В. Масленникова, Е. И. Черезов, Л. Л. Караваев, А. В. Экономов // Молодой ученый. — 2017. — № 4 (138). — С. 222-225.https://www.elibrary.ru/item.asp?id=28153797

7. Трухина Т.И. Особенности распределения личинок трихинелл в мышцах барсуков, обитающих на территории Амурской области / Т.И.Трухина, И.А.Соловьева, Г.А.Бондаренко, Д.А.Иванов // Вестник Новосибирского государственного аграрного университета. – 2019. – N 1 (50). – С. 171-176.https://www.elibrary.ru/item.asp?id=38574497

8. Жданова О. Б., Окулова И. И., Успенский А. В., Написанова Л. А. Морфофункциональные особенности личинок трихинелл у медведей и барсуков в Кировской области // Российский паразитологический журнал. – 2022. – Т. 16, № 1. – С. 63-69. – DOI 10.31016/1998-8435-2022-16-1-63-69. https://elibrary.ru/item.asp?id=48084319

9. МУК 4.2.2747-10 «Методы санитарно-паразитологической экспертизы мяса и мясной продукции». [Электронный ресурс] https://docs.cntd.ru/document/1200084304 (дата обращения

29.01.2024)
10. Kilbourne, B.M., Hutchinson, J.R. Morphological diversification of biomechanical traits: mustelid locomotor specializations and the macroevolution of long bone cross-sectional morphology. BMC Evol Biol 19, 37 (2019). https://doi.org/10.1186/s12862-019-1349-8. https://bmcecolevol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12862-019-1349-8
11. Вансяцкая В. К. Особенности строения нижней челюсти некоторых представителей отрядов хищные, зайцеобразные и грызуны / В. К. Вансяцкая, Е. А. Кирпанева // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. – 2013. – Т. 49, № 2-2. – С. 6-9.
12. Андреянов, О. Н. Сравнительная морфология капсул личинок трихинелл от разных видов хозяев / О. Н. Андреянов // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2014. – № 2(22). – С. 27-29. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21607389
13. Жданова, О. Б. Эколого-биологические и морфологические особенности возбудителя трихинеллёза в Кировской области и оптимизация мер борьбы / О. Б. Жданова, И. И. Окулова // Теоретическая и прикладная экология. – 2023. – № 2. – С. 164-171. – DOI 10.25750/1995-4301-2023-2-164-171.https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54123153

REFERENCES

1. Solovyeva I. A. Features of the formation of natural foci of trichinosis in the Far East / I. A. Solovyeva, G. A. Bondarenko, T. I. Trukhina, D. A. Ivanov // Far Eastern Agrarian Bulletin. – 2016. – No. 4(40). – pp. 126-130. https://elibrary.ru/item.asp?id=30682429(In Russ.)
2. Sitnikova E. F. Visiting badger holes by other mammals and birds / E. F. Sitnikova, M. A. Shumikhina // Current issues of modern zoology and animal ecology: Materials of the All-Russian scientific conference dedicated to the 70th anniversary of the department “Zoology and ecology" of Penza State University and in memory of Professor V.P. Denisov (1932–1997), Penza, November 15–18, 2016. – Penza: Penza State University, 2016: 90. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=27550731 (In Russ.)
3. Bondarenko G.A. Monitoring of trichinosis in the southern regions of the Far Eastern Federal District / G. A. Bondarenko, I. A. Solovyeva, T. I. Trukhina, D. A. Ivanov // Bulletin of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, 2022: 2 (222):106-111. – DOI 10.37102/0869-7698_2022_222_02_9. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48563556 (In Russ.)
4. Kot, T. F. Species features of the morphology of the cervical, thoracic, lumbar and sacral parts of the spinal column of animals of the order Carnivores / T. F. Kot, A. V. Sinitsky, I. M. Lutsyuk // Scientific notes of the educational institution of the Vitebsk Order Badge of honor State Academy of Veterinary Medicine. – 2019. – T. 55, No. 2. – P. 37-41. https://elibrary.ru/item.asp?id=39271593 (In Russ.)
5. Malysheva, E. S. Microstructure of muscle tissue in some representatives of the order of carnivores in a comparative species aspect / E. S. Malysheva, N. D. Ovcharenko // Bulletin of the Altai State Agrarian University. 2015: 2(124):65-68. https://elibrary.ru/item.asp?id=22913304 (In Russ.)
6. Maslennikova, O. V. Alariasis and trichinosis of badgers in the Vyatka-Kama interfluve / O. V. Maslennikova, E. I. Cherezov, L. L. Karavaev, A. V. Ekonomov // Young scientist.2017: 4 (138):222-225. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=28153797 (In Russ.)
7. Trukhina T.I. Features of the distribution of Trichinella larvae in the muscles of badgers living in the Amur region / T.I. Trukhina, I.A. Solovyeva, G.A. Bondarenko, D.A. Ivanov // Bulletin of the Novosibirsk State Agrarian University.2019:1 (50): 171-176. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=38574497 (In Russ.)
8. Zhdanova O.B., Okulova I.I., Uspensky A.V., Napisanova L.A. Morphological and functional characteristics of Trichinella sp. larvae in bears and badgers in the Kirov Re-

gion. Russian Journal of Parasitology. 2022;16(1):63-69. https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-1-63-69(In Russ.)
9. MUK 4.2.2747-10 “Methods of sanitary and parasitological examination of meat and meat products.” [Electronic resource] https://docs.cntd.ru/document/1200084304 (access date 01/29/2024) (In Russ.)
10. Kilbourne, B.M., Hutchinson, J.R. Morphological diversification of biomechanical traits: mustelid locomotor specializations and the macroevolution of long bone cross-sectional morphology. BMC Evol Biol 19, 37 (2019). https://doi.org/10.1186/s12862-019-1349-8. https://bmcecolevol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12862-019-1349-8
11. Vansyatskaya V.K. Features of the structure of the lower jaw of some representatives of the orders carnivores, lagomorphs and rodents / V.K. Vansyatskaya, E.A. Kirpaneva // Scientific notes of the educational institution of the Vitebsk Order of the Badge of Honor State Academy of Veterinary Medicine. – 2013. – T. 49, No. 2-2. – P. 6-9.
12. Andreyanov, O. N. Comparative morphology of capsules of Trichinella larvae from different host species / O. N. Andreyanov // Current issues in veterinary biology. 2014: 2(22):27-29. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21607389 (In Russ.)
13. Zhdanova, O. B. Ecological, biological and morphological features of the causative agent of trichinosis in the Kirov region and optimization of control measures / O. B. Zhdanova, I. I. Okulova // Theoretical and Applied Ecology. 2023: 2:164-171. – DOI 10.25750/1995-4301-2023-2-164-171. https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54123153(InRuss.)

ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ, ФАРМАЦИЯ

УДК: 636.4
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.77

ВЛИЯНИЕ КАРБЕТОЦИНА НА МОЛОЧНУЮ ЖЕЛЕЗУ СВИНЕЙ

Филатов А.В. [1] – д-р ветеринар. наук, проф. (ORCID 0000-0003-4557-844X); **Минин А.В.** [2] – канд. ветеринар. наук, глав. ветеринар. врач
[1] ФГБОУ ВО «Вятский государственный агротехнологический университет», Институт агробиотехнологий им. А.В. Журавского Коми научного центра УрО РАН
[2] ООО «Восточный»

*fav6819@yandex.ru

Ключевые слова: *свиноматки, карбетоцин, лактация, молозиво, концентрация иммуноглобулинов.*
Keywords: *sows, carbetocin, lactation, colostrum, immunoglobulin concentration.*

Поступила: 25.01.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Карбетоцин (дезамино-1-монокарба-(2-О-метилтирозин)-окситоцин) относиться к пролонгированному по действию, синтетическому аналогу окситоцина, имеет аналогичные с натуральным окситоцином фармакодинамические свойства. Препараты содержащие карбетоцин нашли применение при патологии родов и послеродового периода. Вместе с тем в литературе имеются ограниченные сведения о влиянии данного фармакологического средства на молочную железу животных. Целью представленной экспериментальной работы являлось изучение влияния карбетоцина на молочную железу свиноматок в послеродовой период. Исследования выполнены на основных свиноматках в ранний послеродовый период. Животные по принципу аналогов были разделены на 2 группы: опытную и контрольную. Свиноматкам опытной группы парентерально вводили карбетоцин в дозе 0,07 мг с интервалом 24 часа, а контрольной – утеротонические средства не использовали. У животных опытной группы фиксировали время индуцированного выделения секрета молочной железы после введения кабетоцина. В молозиве (молоке) всех исследуемых животных определяли концентрацию иммуноглобулинов с помощью рефрактометра по Brix. Установлено, что после инъекции карбетоцина средняя продолжительность выведения секрета молочных желез у свиноматок не имела значительных различий в течение 1 и 2 суток после родов и составила 363,00±8,40 и 355,50±8,51 минут, соответственно. Его свободное выделение у животных происходит в течение 4-7 часов после введения пролонгированного аналога окситоцина. Применение карбетоцина свиноматкам в послеродовой период не приводит к увеличению в молозиве или переходном молоке количества иммуноглобулинов вне зависимости от доли молочной железы. При этом регистрируется достоверное снижение иммунных белков через 24 часа к первоначальному уровню.

ВВЕДЕНИЕ/ INTRODUCTION

Карбетоцин (дезамино-1-монокарба-(2 -О-метилтирозин)-окситоцин) относиться к длительно действующим синтетическим аналогом окситоцина, имеет аналогичные с натуральным окситоцином фармакодинамические свойства. Однако он структурно отличается от окситоцина из-за замены аминогруппы цистеина атомом водорода, модификации дисульфидной связи тиоэфирной связью и замены гидроксильной группы тирозина метилоксильной группой. Эти молекулярные модификации придают карбетоцину большую стабильность и позволяют избежать раннего разложения ферментами дисульфидазой, аминопептидазой и оксидоредуктазой [1].

Для родовспоможения и профилактики послеродовых осложнений воспалительного характера матки и молочной железы в практическую практику предложено использование препаратов, содержащих карбетоцин [2, 3]. Показано, что парентеральное введение карбетоцина в послеродовой период способствует повышению регуляторных механизмов сократительной деятельности маточных структур. После его введения свиноматкам после родов сократительная активность миометрия достигает максимального уровня через 3 часа и сохраняется в течение 24 часов. Инъекция карбетоцина через 12-16 часов после опороса с повторным введением в течение 2 суток в дозе 0,07 мг через 24 часа снижает развитие послеродового эндометрита в 2,4 раза, а послеродовой дисгалактии в 3,04 раза [4].

В литературе имеются ограниченные сведения о влиянии данного фармакологического средства на молочную железу животных. В биомедицинских исследованиях показано, что применение карбетоцина для получения образцов молока от мышей является более эффективным неинвазивным методом, чем в аналогичной дозе ранее использовавшегося окситоцина. Молоко начинало поступать через 1,5 минуты после введения карбетоцина, при этом удается получить до 0,89 г молока от одной мыши за 20 минут [1]. При внутримышечной инъекции 0,2-0,6 мг дезамино-1-монокарба-(2-О-метилтирозин)-окситоцина здоровым лактирующим свиноматкам продолжительность эффекта выделения молока составляет 6,2 часа [5].

Целью представленной экспериментальной работы являлось изучение влияния карбетоцина на молочную железу свиноматок в послеродовой период.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования по определению влияния карбетоцина на молочную железу свиноматок провели в условиях промышленного свиноводческого комплекса. В качестве объекта исследования использовались основные свиноматки в первые двое суток после опороса, а источника карбетоцина – препарат Рутоцин (ООО «Рубикон», Р. Беларусь) в дозе 1 мл на животное, содержащий 0,07 мг действующего вещества.

Животных разделили на две аналоговые группы. Свиноматкам опытной группы (n=20) внутримышечно вводили карбетоцин с интервалом 24 часа. Животным контрольной группы (n=20) утеротонические средства не использовали. У свиноматок опытной группы в 1 и 2 сутки после родов фиксировали время выделения молозива или переходного молока после инъекции препарата, содержащего карбетоцин. Также у всех животных опытной и контрольной группы определяли концентрацию иммуноглобулинов в молозиве (молоке) полученного из передних, средних и задних долей вымени. Определение уровня иммуноглобулинов проводили с помощью рефрактометра по Brix.

Полученные результаты подвергали статистической обработке включающую вычисление среднего арифметического, стандартного отклонения и достоверности по Стьюденту [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESUTS

Парентеральное введение карбетоцина приводит к индуцированному выведению секрета молочных желез у свиноматок в ранний послеродовой период (табл. 1). Средняя продолжительность его выведения не имеет значительных различий в

течение 1 и 2 суток после родов и составляет 363,00±8,40 и 355,50±8,51 минут, соответственно. Свободное выделение молозива (молока) у свиноматок происходит в диапазоне от 4 до 7 часов после инъекции карбетоцина. Так, выделение секрета у 10-15% животных происходило в течение от 4 до 5 часов, у 50% – от 5 до 6 часов и у 35-40% – более 6 часов. По-видимому, под действием утеротонического средства миоэпителиальные клетки, расположенные в основании альвеол, сокращаясь проводят к уменьшению объема альвеол, что сопровождается выведением через мелкие и средние протоки скопившегося в них секрета. При анатомической особенности молочной железы свиней, как отсутствие цистерны, секрет продвигается по более крупным выводным протокам и легко выделяется через молочные ходы на поверхности соска. Свободно выделяемое молозиво становиться более доступным для новорожденных поросят в первые дни неонатального периода, что особенно важно для слабого потомства приводящее к повышению его жизнеспособности. Вероятно, повышение извлеченности молозива поросятами из молочной железы создает предпосылки для повышения его синтеза в ней. Также введение карбетоцина может рассматриваться как средство для профилактики развития послеродовой дисгалактии связанное с нарушением лактации у свиноматок.

Таблица 1 - Продолжительность индуцированного выделения молозива после введения карбетоцина (n=20)

Время выделение молозива (молока), ч	1 сутки после родов		2 сутки после родов	
	количество животных	%	количество животных	%
4-00 – 4-30	1	5	1	5
4-30 – 5-00	1	5	2	10
5-00 – 5-30	3	15	4	20
5-30 – 6-00	7	35	6	30
6-00 – 6-30	6	30	6	30
6-30 – 7-00	2	10	1	5

Таблица 2 - Количество иммуноглобулинов (г/100 мл; n=20)

Доля молочной железы	Группа	
	опытная	контрольная
Передняя	$\frac{18,45\pm0,63}{16,40\pm0,57^{*}}$	$\frac{18,30\pm0,49}{16,15\pm0,46^{**}}$
Средняя	$\frac{18,75\pm0,50}{16,70\pm0,45^{**}}$	$\frac{19,20\pm0,47}{16,65\pm0,54^{**}}$
Задняя	$\frac{19,35\pm0,57}{17,70\pm0,52^{*}}$	$\frac{19,35\pm0,44}{16,90\pm0,47^{***}}$

Примечание: числитель - через сутки после родов, знаменатель - через 2 суток после родов; $^{*}p<0,05$; $^{**}p<0,01$ и $^{***}p<0,001$ - по отношению к первоначальным значениям.

На фоне применения карбетоцина через 1 сутки после родов концентрация иммуноглобулинов в молозиве во всех исследуемых долях молочной железы свиноматок имеет идентичные цифровые значения с показателями контрольной группы. При определении количества иммуноглобулинов через 2 суток после окончания родового процесса регистрируется незначительное их увеличение у опытных животных по сравнению с интактными. Отсутствие значимых разли-

чий в количестве иммунных белков в молозиве на 1 и 2 сутки после опроса между исследуемыми группами позволяет сделать утверждение, что применение пролонгированного аналога окситоцина свиноматкам в послеродовой период не приводит к увеличению в молозиве количества иммуноглобулинов. Результаты исследования согласуются с ранее полученными нами данными о том, что трехкратное введение супрафизиологических доз окситоцина (75 ЕД) после родов не изменяет количество иммуноглобулинов в молозиве маточного поголовья и в сыворотке крови приплода [7].

Необходимо отметить, что количество иммунных белков в молозиве достоверно снижается по отношению к первоначальным значениям во всех исследуемых группах. Так, в опытной группе снижение данного показателя в молозиве в передних долях произошло на 11,11% ($p<0,05$), в средних – на 10,93% ($p<0,01$) и задних – на 8,53% ($p<0,05$), в контрольной группе на 11,75% ($p<0,01$), 13,28% ($p<0,01$) и 12,66% ($p<0,001$), соответственно. Полученные данные указывают на снижение синтеза иммуноглобулинов в период продолжающейся лактации при переходе от молозива к молоку. Идентичное снижение в исследуемых группах количественных значений иммуноглобулинов также свидетельствует об отсутствии влияния карбетоцина на образование в секрете при дальнейшем лактогенезе. Наши данные согласуются с ранее полученными S. Hasan et. al. о том, что концентрация иммуноглобулина G снижается в среднем на 50% ($p<0,01$) в течение первых суток лактации [8]. Общее содержание белка первого молозива было примерно в 3 раза выше его уровня в молоке к концу лактации. Все белковые фракции снижаются в период лактации за исключением казеина [9].

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Карбетоцин при парентеральном введении обеспечивает индуцированное выделение секрета из молочной железы у свиноматок в раннем послеродовом периоде в течение 355,5-363,0 минут. Свободное выделение молозива (молока) создает доступность его для новорожденных поросят в первые дни неонатального периода, что особенно важно для слабого потомства с целью повышения его жизнеспособности. Применение окситоцинподобного утеротонического средства свиноматкам в послеродовой период не сопровождается увеличением количества иммуноглобулинов в молозиве. Также его содержание в секрете не различается между отделами молочной железы.

THE EFFECT OF CARBETOCIN ON THE MAMMARY GLAND OF PIGS

Filatov A.V. [1] – doctor of veterinary sciences, professor; **Minin A.V.** [2] – candidate of veterinary sciences, chief veterinarian.

[1] Vyatka State Agrotechnological University, leading researcher, Zhuravsky Institute of Agrobiotechnologies of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

[2]Vostochny LLC

*fav6819@yandex.ru

ABSTRACT

Carbetocin (deamino-1-monocarba-(2-O-methylthyrosine)-oxytocin) refers to a prolonged-acting, synthetic analogue of oxytocin, has pharmacodynamic properties similar to natural oxytocin. Drugs containing carbetocin have been used in the pathology of childbirth and the postpartum period. However, there is limited information in the literature on the effect of this pharmacological agent on the mammary gland of animals. The aim of the presented experimental work was to study the effect of carbetocin on the mammary gland of sows in the postpartum period. The studies were performed on the main sows in the early postpartum period. According to the principle of analogues, the animals were divided into 2 groups: experimental and control. Carbetocin was parenterally administered to sows of the experimental group at a dose of 0.07 mg with an interval of 24 hours, and uterotonic agents were not used in the control group. In animals of the experimental group, the time of

induced secretion of breast secretions after administration of cabetocin was recorded. The concentration of immunoglobulins in colostrum (milk) of all studied animals was determined using a Brix refractometer. It was found that after carbetocin injection, the average duration of excretion of mammary gland secretions in sows had no significant differences during 1 and 2 days after delivery and amounted to 363.00±8.40 and 355.50±8.51 minutes, respectively. Its free release in animals occurs within 4-7 hours after administration of a prolonged oxytocin analog. The use of carbetocin in sows in the postpartum period does not lead to an increase in the amount of immunoglobulins in colostrum or transitional milk, regardless of the proportion of the mammary gland. At the same time, a significant decrease in immune proteins is recorded after 24 hours to the initial level.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Klein P., Kleinova I., Rucka V., Nevoral J. Non-invasive method of obtaining milk from mice using carbetocin, a synthetic analogue of oxytocin February 2022 Journal of Pharmacological and Toxicological Methods 114(1):107158 DOI: 10.1016/ j.vascn.2022.107158.
2. Ward Sophia A., Kirkwood R.N., Plush K.L. Effects of oxytocin and carbetocin on farrowing performance, Animal Reproduction Science, Volume 205, 2019, P. 88-93 DOI: 10.1016/j.anireprosci.2019.04.007.
3. Минин, А. В. Профилактическая эффективность "Рутоцина" в послеродовой период / А. В. Минин, А. В. Филатов // Свиноводство. – 2023. – № 5. – С. 40-42. – DOI 10.37925/0039-713X-2023-5-40-42.
4. Минин, А. В. Утеротоническая активность препарата Рутоцин при применении высокопродуктивным свиноматкам в послеродовой период / А. В. Минин, А. В. Филатов // Ветеринария. – 2023. – № 9. – С. 42-45. – DOI 10.30896/0042-4846.2023.26.9.42-45.
5. Cort N., Einarsson S., Aström G. Effect of oxytocin and its long-acting analog on milk let-down and intramammary pressure in healthy lactating sows.-Am J Vet Res. 1982 Jul;43(7):1283-5.
6. Ивантер Э.В., Коросов А.В. Элементарная биометрия. Петрозаводск, 2005. 104с.
7. Минин, А. В. Эффективность применения больших доз окситоцина высокопродуктивным свиноматкам в послеродовой период / А. В. Минин, А. В. Филатов // Свиноводство. – 2022. – № 7. – С. 35-37. – DOI 10.37925/0039-713X-2022-7-35-37.
8. Hasan, S., Junnikkala, S., Valros, A., Peltoniemi, O., & Oliviero, C. (2016). Validation of Brix refractometer to estimate colostrum immunoglobulin G content and composition in the sow. Animal, 10(10), 1728-1733. DOI 10.1017/S1751731116000896
9. Csapó J. et al. Protein, fats, vitamin and mineral concentrations in porcine colostrum and milk from parturition to 60 days // International Dairy Journal. – 1996. – Т. 6. – №. 8-9. – С. 881-902. DOI 10.1016/0958-6946(95)00072-0

REFERENCES

1. Klein P., Kleinova I., Ruka V., Nevoral J. A non-invasive method for obtaining milk from mice using carbetocin, a synthetic analogue of oxytocin February 2022. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods 114(1):107158 DOI: 10.1016/ J.vascn.2022.107158.
2. Ward Sofia A., Kirkwood R. N., Plush K.L. The effect of oxytocin and carbetocin on farrowing indicators, Animal Reproduction Science, Volume 205, 2019, pp. 88-93 DOI: 10.1016/j.anireprosci.2019.04.007.
3. Minin, A.V. Preventive effectiveness of Rutocin in the postpartum period / A.V. Minin, A.V. Filatov // Pig breeding. – 2023. – No. 5. – pp. 40-42. – DOI 10.37925/0039-713X-2023-5-40-42.
4. Minin, A.V. Uterotonic activity of the drug Rutocin when used in highly productive sows in the postpartum period / A.V. Minin, A.V. Filatov // Veterinary medicine. - 2023. – No. 9. – pp. 42-45. - DOI 10.30896/0042-4846.2023.26.9.42-45.
5. Kort N., Einarsson S., Astrom G. The effect of oxytocin and its long-acting analog on milk production and intramammary pressure in healthy lactating sows. - Am J Vet Res. 1982 July; 43(7): 1283-5.

6. Ivanter E.V., Korosov A.V. Elementary biometrics. Petrozavodsk, 2005. 104c.
7. Minin, A.V. The effectiveness of using high doses of oxytocin to highly productive sows in the postpartum period / A.V. Minin, A.V. Filatov // Pig breeding. – 2022. – No. 7. – pp. 35-37. – DOI 10.37925/0039-713X-2022-7-35-37.
8. Hassan S., Junnikkala S., Valros A., Peltoniemi O. and Oliviero S. (2016). Validation of the Brix refractometer to assess the content and composition of immunoglobulin G in sow colostrum. Animal, 10(10), 1728-1733. DOI 10.1017/S1751731116000896
9. Chapo J. and others. The concentration of proteins, fats, vitamins and minerals in colostrum and milk of pigs from birth to 60 days //International Dairy Journal. – 1996. – vol. 6. – No. 8-9. – pp. 881-902. DOI 10.1016/0958-6946(95)00072-0

УДК: 636:616.36:612.357
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.83

ОСОБЕННОСТИ КЛИРЕНСА ЭКЗОГЕННОГО СОРБИТОЛА У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Андреева Н.Л.* – д-р биол. наук, проф. каф. фармакологии и токсикологии; **Понамарев В.С.** – канд. ветеринар. наук, ст. преп. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-6852-3110).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*farm07@mail.ru

Ключевые слова: *Ключевые слова: клиренс-тест, сорбитол, фармакокинетика, элиминация сорбитола.*
Keywords: *clearance test, sorbitol, pharmacokinetics, elimination of sorbitol.*

Благодарности: *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-26-00005, https://rscf.ru/project/ 24-26-00005*

Поступила:10.01.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Клиренс играет важную роль в определении функциональной активности органов и систем, которые принимают непосредственное участие в метаболизации и удалении различных экзогенных веществ. Он также является важным показателем для оценки зависимости концентрации ксенобиотиков в биологических жидкостях на различных временных промежутках от их изначальной дозировки, что позволяет использовать эти параметры для диагностических целей. Однако, методы определения клиренса напрямую зависят от характеристик элиминации вещества. Цель настоящего исследования – провести экспериментальное исследование, направленное на установление клиренса экзогенного сорбитола у лабораторных животных с отсутствием патологий гепатобилиарной и выделительной систем. Проанализировав полученные данные, мы сделали вывод о стабильных показателях клиренса при энтеральном введении сорбитола у клинически здоровых животных, так как с каждым пройденным временным интервалом концентрация сорбитола снижалась на определенную величину. Показатель клиренса характеризовался положительными значениями, что говорит о том, что экзогенный сорбитол не имеет тенденции к удержанию в биологических жидкостях. Результаты исследования показали стабильные и сопоставимые межиндивидуальные показатели клиренса, что свидетельствует о линейности процесса элиминации сорбитола в отсутствие патологий. Положительной особенностью такого понижения является его предсказуемость и возможность использования этой информации в клинических целях. Однако, следует отметить, что линейное понижение концентрации экзогенной субстанции может быть нарушено при наличии патологических состояний. Дальнейшим направлением исследований будет являться изучение фармакокинетических параметров (в частности, клиренса) сорбитола при различных патологиях гепатобилиарной системы, что позволит оценить возможность применения данных тестов при диагностике гепатобилиарных патологий.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Клиренс является важным показателем функциональной активности органов и их систем, непосредственно участвующих в биотрансформации и элиминации экзогенных веществ [1]. Он также служит важным критерием для определения влияния дозировки ксенобиотиков на их содержание в биологических жидкостях в различные временные интервалы, что позволяет использовать данные параметры с диагностической целью. Однако способы определения клиренса напрямую зависят от характера элиминации вещества [2].

Так, в случае «стандартной» элиминации, когда выведение экзогенной субстанции при энтеральных введениях производится, преимущественно, экскреторной системой, показатели клиренса наиболее значительно коррелируют с таким параметром, как период полувыведения, поскольку он отражает скорость, с которой экзогенное вещество выводится из организма. Соответственно, клиренс определяет скорость удаления данной субстанции и часто прямо пропорционален периоду полувыведения – чем выше клиренс, тем короче период полувыведения [3-5].

Ещё одним значительным критерием является объём распределения, который указывает на меру, с которой ксенобиотик распределяется внутри организма. Влияние объема распределения на клиренс и период полувыведения объясняется принципом «объем-скорость»: если объем распределения высок, то экзогенное вещество более распределено в тканях организма и менее доступно для удаления, что может привести к увеличению периода полувыведения и снижению клиренса [6].

Все вышеперечисленные параметры – клиренс, период полувыведения и объем распределения – взаимосвязаны и могут быть использованы для создания и реализации диагностических клиренс-методов оценки, позволяющих определять функциональное состояние связанных систем органов (в частности, гепатобилиарной) [7,8].

Цель настоящего исследования - провести экспериментальное исследование, направленное на установление почечного клиренса экзогенного сорбитола у лабораторных животных с отсутствием патологий гепатобилиарной и выделительной систем.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводились в виварии кафедры фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ.

Исследования были проведены в соответствии принципами Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей, правилами надлежащей лабораторной и клинической (GLP и GCP) практики, а также требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях [9,10]. Дизайн исследования одобрен комиссией по биоэтике ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

Для выполнения данного исследования использовали нелинейных лабораторных крыс – 10 самцов и 10 самок. Средняя живая масса крыс составляла около 200 г с погрешностью 5%, а возраст исследуемых особей составлял 3-4 месяца. Условия кормления и содержания подопытных животных были организованы в соответствии с методическими рекомендациями [11,12]. После оценки классических клинико-биохимических параметров [13,14], нами был сделан вывод о том, что подопытные животные являются клинически здоровыми.

В связи со стандартной моделью элиминации сорбитола, для вычисления клиренса было использовано стационарное дифференциальное уравнение:

$$K = \frac{C_U * Q}{C_B}$$, где:

K – клиренс (мл/ч/кг);

C_U - концентрация в моче за сутки (ммоль/л);

Q – объём мочи в сутки (мл/24 ч);

C_B - постоянная концентрация в плазме за время эксперимента (ммоль/л) [15].

Так как, исходя из характера эксперимента, невозможно установить соответствие между количеством сорбитола в моче за сутки и уровнями за тот же период в плазме крови, [16], вместо постоянной концентрации нами использовалась формула расчёта равновесной (стационарной концентрации) по формуле:

Где:

$$C_{SS} = \frac{1.44 * F * D * T_{1/2}}{V_d * t}$$

C_{SS}- равновесная (стационарная) концентрация (ммоль/л);

F- биодоступность (%);

D – доза (мг/кг);

$T_{1/2}$ – период полувыведения (ч);

V_d – объём распределения ($м^3$)

t – интервал между введениями (в связи с однократностью введения был принят за 1) [15].

Расчётные параметры для сорбитола были взяты из данных других исследователей [16-20], параметры C_u и K были выявлены в ходе данного эксперимента.

Из подопытных животных были сформированы опытная и контрольная группы (по 5 самок и 5 самцов в каждой), подопытной внутрижелудочно вводился раствор сорбитола пищевого из расчета 100 мг/кг в пересчёте на чистый D-глюцитол, так как данная дозировка считается наиболее применяемой с целью определения сорбитола в биожидкостях после энтерального введения [16]. Контрольной группе вводился эквивалентный объём воды для инъекций.

Уровень сорбитола определялся методом Коркорана и Пейджа с модификацией [21,22], с использованием спектрофотометра УФ-1100 («Shanghai Mapada Instruments Co., Ltd.», Китай) спустя 24 часа после введения в моче лабораторных животных посредством помещения в индивидуальные, покрытые полимерной пленкой [23].

Расчёт достоверности разницы (p) по критерию Стьюдента не проводился в связи с поисковым характером исследования и отсутствием групп сравнения.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Эндогенная концентрация сорбитола у здоровых животных лежит ниже границы чувствительности используемого метода, по этой причине числовые значения для контрольной группы отсутствуют. Данные по концентрации экзогенного сорбитола (дозировка - 100 мг/кг) в моче за сутки, а также клиренс, рассчитанный для каждой особи представлены на рисунках 1,2.

Проведя анализ полученных данных, можно сделать вывод, что энтеральное введение сорбитола у клинически здоровых животных имеет стабильные показатели клиренса, с каждым прошедшим временным интервалом концентрация сорбитола снижается на определенную величину. Показатель клиренса характеризовался положительными значениями, следовательно, экзогенный сорбитол не имеет тенденции к удержанию в биологических жидкостях.

По результатам исследования нами фиксировались стабильные и соизмеримые межиндивидуальные показатели клиренса, что свидетельствует о линейности процесса элиминации сорбитола в отсутствии патологий, что доказывается расположением значений на графике в одной из условных геометрических четвертей.

Также близкие межиндивидуальные значения клиренса сорбитола при энтеральном введении косвенно свидетельствуют об экскреции, преимущественно, путём гломерулярной фильтрации, следовательно, в контексте оценки состояния гепатобилиарной системы, данный показатель следует считать неоднозначным, так как при данном способе элиминации наибольшее влияние на показатели клиренса будет оказывать состояние выделительной системы животного (в частности, системы канальцев нефронов), а не его гепатобилиарная биотрансформация.

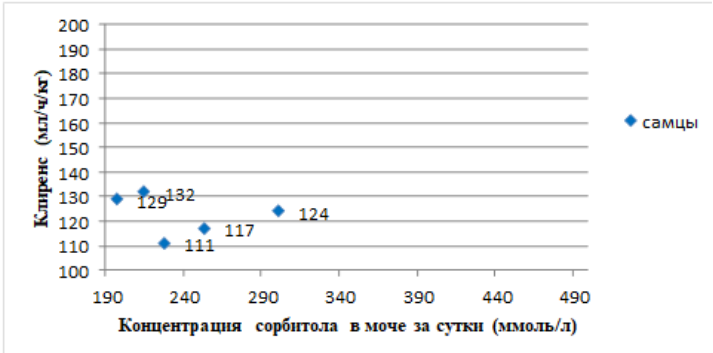


Рисунок 1 – Концентрации сорбитола в моче (в ммоль/л), а также клиренс сорбитола (в мл/ч/кг) у подопытной группы животных (самцы, дозировка – 100 мг/кг).

Рисунок 2 – Концентрации сорбитола в моче (в ммоль/л), а также клиренс сорбитола (в мл/ч/кг) у подопытной группы животных (самки, дозировка – 100 мг/кг).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проанализировав полученные данные, можно сделать вывод, что при энтеральном введении клиренс сорбитола является стабильным показателем у клинически здоровых животных, для которого характерен фармакокинетический линейный спад концентрации, т.е. каждый пройденный интервал времени сопровождается снижением концентрации субстанции на определенную величину. Положительной особенностью такого понижения является его предсказуемость и возможность использования этой информации в клинических целях.

Однако, следует отметить, что линейное понижение концентрации экзогенной субстанции может быть нарушено при наличии патологических состояний. Дальнейшим направлением исследований будет являться изучение фармакокинетических параметров (в частности, клиренса) сорбитола при различных патологиях гепатобилиарной системы, что позволит оценить возможность применения данных тестов при диагностике гепатобилиарных патологий.

FEATURES OF EXOGENEOUS SORBITOL CLEARANCE IN LABORATORY ANIMALS

Andreeva N.L.* – d. biol. Sc., prof. department pharmacology and toxicology, **Ponamarev V.S.** – senior lecturer., Ph.D. of Veterinary Science (ORCID 0000-0002-6852-3110).

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "St. Petersburg State University of Veterinary Medicine"

*farm07@mail.ru

Acknowledgments: *The study was supported by the Russian Science Foundation Grant No. 24-26-00005, https://rscf.ru/project/24-26-00005.*

ABSTRACT

Clearance plays an important role in determining the functional activity of organs and systems that are directly involved in the metabolization and removal of various exogenous substances. It is also an important indicator for measuring the effect of xenobiotic dosage on their concentration in biological fluids over various time periods, which allows the use of these parameters for diagnostic purposes. However, methods for determining clearance are directly dependent on the removal characteristics of the substance. The purpose of this study is to conduct an experimental study aimed at establishing the clearance of exogenous sorbitol in laboratory animals with the absence of pathologies of the hepatobiliary and excretory systems. Having analyzed the data obtained, we concluded that clearance rates were stable after enteral administration of sorbitol in clinically healthy animals, i.e. with each time interval passed, the concentration of sorbitol decreases by a certain value. The clearance indicator was characterized by positive values, which indicates that exogenous sorbitol is not retained in biological fluids. The results of the study showed stable and comparable interindividual clearance rates, which indicates the linearity of the process of sorbitol elimination in the absence of pathologies. A positive feature of this reduction is its predictability and the possibility of using this information for clinical purposes. However, it should be noted that the linear decrease in the concentration of an exogenous substance may be disrupted in some cases, for example, in the presence of pathological conditions; therefore, a further direction of research will be to study changes in the pharmacokinetic parameters (in particular, clearance) of sorbitol in various pathologies of the hepatobiliary system.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Зырянов, С. К. Фармакокинетика лекарственных средств / С. К. Зырянов, О. И. Бутранова, М. Б. Кубаева. – Москва: Российский университет дружбы народов (РУДН), 2022. – 134 с. – ISBN 978-5-209-10837-5.

2.Craigmill, A. L. Handbook of comparative pharmacokinetics and residues of veterinary therapeutic drugs / A. L. Craigmill, S. F. Sundlof, J. E. Riviere // Handbook of Comparative Pharmacokinetics and Residues of Veterinary Therapeutic Drugs, 2018. – P. 1-665. – DOI 10.1201/9781351072472.

3.Pharmacokinetics / S. C. Turfus, R. Delgoda, D. Picking, B. J. Gurley // Pharmacognosy: Fundamentals, Applications and Strategy, 2016. – P. 495-512. – DOI 10.1016/B978-0-12-802104-0.00025-1.

4.O'connor, C. Pharmacokinetics of Systemic Drug Delivery / C. O'connor, N. Ramanath, M. Campbell // Nervous System Drug Delivery: Principles and Practice, 2019. – P. 39-56. – DOI 10.1016/B978-0-12-813997-4.00003-7.

5.Da Silva, A. Role of pharmacokinetics: Pharmacodynamics in biosimilar assessment / A. Da Silva, D. Renard // Pharmacokinetics in Drug Development: Problems and Challenges in Oncology, Volume 4, 2016. – P. 175-188. – DOI 10.1007/978-3-319-39053-6_9.

6.Безопасность лекарств: от доклиники к клинике / Т. А. Гуськова, А. Л. Хохлов, Б. К. Романов [и др.]. – Москва-Ярославль: Общество с ограниченной ответственностью "Аверс Плюс", 2018. – 275 с. – ISBN 978-5-9527-0351-3.

7.Клиренс-тесты как метод диагностики патологий гепатобилиарной системы у животных / В. С. Понамарев, О. С. Попова, А. В. Кострова, Л. А. Агафонова // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2023. – Т. 24, № 6. – С. 924-938. – DOI 10.30766/2072-9081.2023.24.6.924-938.

8.Обзор современных методов диагностики заболеваний гептобилиарной системы / О. С. Попова, В. С. Понамарев, А. В. Кострова, Л. А. Агафонова // Международный вестник ветеринарии. – 2023. – № 1. – С. 113-122. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.1.113.

9.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/168007a6a8.Ссылка активна на 14 января 2023 г.

10.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:2010:276:0033:0079:en:PDF. Ссылка активна на 14 января 2023 г.
11.Медведев, А. П. Основы анатомии, физиологии, содержания и использования лабораторных животных / А. П. Медведев, А. А. Вербицкий. - Витебск: Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины ", 2016. - 204 с. -. ISBN: 978-985-512-930-2
12.Методические рекомендации по содержанию лабораторных животных в виварияx научно-исследовательских институтов и учебных заведений РД-АПК 3.10.07.02-09 (утв. Министерством сельского хозяйства РФ 1 декабря 2009 г.)
13.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.
14.Основы проведения биомедицинских исследований на лабораторных животных: учеб. пособие / М.О. Гомзикова, А.Г. Маланьева, З.Ю. Сираева – Казань: ИД «МеДДоК», 2021. – 124 с.
15.Сергиенко, В. И. Прикладная фармакокинетика: основные положения и клиническое применение / В. И. Сергиенко, Р. Джеллифф, И. Б. Бондарева. – Москва: Издательство РАМН, 2003. – 208 с. – ISBN 5-7901-0031-7.
16.Zeeh J, Lange H, Bosch J, et al. Steady-state extrarenal sorbitol clearance as a measure of hepatic plasma flow. Gastroenterology. 1988;95(3):749-759. doi:10.1016/s0016-5085(88)80024-6
17.van der Hoven B., van Pelt H., Swart E.L., et al. Noninvasive functional liver blood flow measurement: comparison between bolus dose and steady-state clearance of sorbitol in a small-rodent model. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2010;298 (2): G177-G181. doi:10.1152/ajpgi.90688.2008
18.Dash, R. P., Srinivas, N. R., & Babu, R. J. (2019). Use of sorbitol as pharmaceutical excipient in the present-day formulations - issues and challenges for drug absorption and bioavailability. Drug development and industrial pharmacy, 45(9), 1421–1429. https://doi.org/10.1080/03639045.2019.1640722
19.Adkison K, Wolstenholme A, Lou Y, et al. Effect of Sorbitol on the Pharmacokinetic Profile of Lamivudine Oral Solution in Adults: An Open-Label, Randomized Study. Clin Pharmacol Ther. 2018;103(3):402-408. doi:10.1002/cpt.943
20.Villalobos-García D., Ayhllon-Osorio C.A., Hernández-Muñoz R. The fructose-dependent acceleration of ethanol metabolism. Biochem Pharmacol. 2021; 188:114498. doi: 10.1016/j.bcp.2021.114498
21.West C. D., Rapoport S. Modification of Colorimetric Method for determination of Mannitol and Sorbitol in Plasma and Urine. Experimental Biology and Medicine. 1949;70(1):141-142. DOI: https://doi.org/10.3181/00379727-70-16853
22.Corcoran A. C., Page I. H. A method for the determination of mannitol in plasma and urine. Journal of Biological Chemistry. 1947;5(1):130.
23.Трофимец, Е. И. Получение образцов мочи у лабораторных животных (обзор) / Е. И. Трофимец, А. Е. Кательникова, К. Л. Крышень // Лабораторные животные для научных исследований. – 2021. – № 1. – С. 30-47. – DOI 10.29296/2618723X-2021-01-04.

REFERENCES

1. Zyryanov, S.K. Pharmacokinetics of drugs / S.K. Zyryanov, O.I. Butranova, M.B. Kubaeva. – Moscow: Peoples' Friendship University of Russia (RUDN), 2022. – 134 p. – ISBN 978-5-209-10837-5.
2. Craigmill, A. L. Handbook of comparative pharmacokinetics and residues of veterinary therapeutic drugs / A. L. Craigmill, S. F. Sundlof, J. E. Riviere // Handbook of Comparative Pharmacokinetics and Residues of

Veterinary Therapeutic Drugs, 2018. – P. 1-665. – DOI 10.1201/9781351072472.
3. Pharmacokinetics / S. C. Turfus, R. Delgoda, D. Picking, B. J. Gurley // Pharmacognosy: Fundamentals, Applications and Strategy, 2016. – P. 495-512. – DOI 10.1016/B978-0-12-802104-0.00025-1.
4. O'connor, C. Pharmacokinetics of Systemic Drug Delivery / C. O'connor, N. Ramanath, M. Campbell // Nervous Systemic Drug Delivery: Principles and Practice, 2019. – P. 39-56. – DOI 10.1016/B978-0-12-813997-4.00003-7.
5. Da Silva, A. Role of pharmacokinetics: Pharmacodynamics in biosimilar assessment / A. Da Silva, D. Renard // Pharmacokinetics in Drug Development: Problems and Challenges in Oncology, Volume 4, 2016. – P. 175-188. – DOI 10.1007/978-3-319-39053-6_9.
6. Drug safety: from preclinic to clinic / T. A. Guskova, A. L. Khokhlov, B. K. Romanov [etc.]. – Moscow-Yaroslavl: Limited Liability Company “Avers Plus”, 2018. – 275 p. – ISBN 978-5-9527-0351-3.
7. Clearance tests as a method for diagnosing pathologies of the hepatobiliary system in animals / V. S. Ponamarev, O. S. Popova, A. V. Kostrova, L. A. Agafonova // Agricultural Science of the Euro-North-East. – 2023. – T. 24, No. 6. – P. 924-938. – DOI 10.30766/2072-9081.2023.24.6.924-938.
8. Review of modern methods for diagnosing diseases of the heptobiliary system / O. S. Popova, V. S. Ponamarev, A. V. Kostrova, L. A. Agafonova // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2023. – No. 1. – P. 113-122. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.1.113.
9. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental or Other Scientific Purposes (Strasbourg, 18 March 1986). Available at: https://rm.coe.int/168007a6a8. Link active 14 January 2023.
10. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Available from: https://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:en:PDF. Link active as of January 14, 2023
11. Medvedev, A. P. Fundamentals of anatomy, physiology, maintenance and use of laboratory animals / A. P. Medvedev, A. A. Verbitsky. - Vitebsk: Educational Institution "Vitebsk Order of the Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine", 2016. - 204 p. -. ISBN: 978-985-512-930-2
12. Guidelines for keeping laboratory animals in vivariums of research institutes and educational institutions RD-APK 3.10.07.02-09 (approved by the Ministry of Agriculture of the Russian Federation on December 1, 2009)
13. Biochemistry of the liver and laboratory assessment of its physiological and biochemical state: educational manual / O. S. Belonovskaya, A. A. Lisitsyna, L. Yu. Karpenko, A. A. Bakhta. - St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2014. - 116 p.
14. Fundamentals of biomedical research on laboratory animals: textbook. allowance / M.O. Gomzikova, A.G. Malaneva, Z.Yu. Siraeva - Kazan: Publishing House "MeDDoK", 2021. - 124 p.
15. Sergienko, V. I. Applied pharmacokinetics: basic principles and clinical application / V. I. Sergienko, R. Jelliffe, I. B. Bondareva. – Moscow: Publishing House of the Russian Academy of Medical Sciences, 2003. – 208 p. – ISBN 5-7901-0031-7.
16. Zeeh J, Lange H, Bosch J, et al. Steady-state extrarenal sorbitol clearance as a measure of hepatic plasma flow. Gastroenterology. 1988;95(3):749-759. doi:10.1016/s0016-5085(88)80024-6
17. van der Hoven B., van Pelt H., Swart E. L., et al. Noninvasive functional liver blood flow measurement: comparison between bolus dose and steady-state clearance of sorbitol in a small-rodent model. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2010;298(2): G177-G181. doi:10.1152/ajpgi.90688.2008
18. Dash, R. P., Srinivas, N. R., & Babu, R. J. (2019). Use of sorbitol as a pharmaceutical excipient in the present-day formulations - issues and challenges for drug absorption and bioavailability. Drug development and industrial pharmacy, 45(9), 1421–1429.

https://
doi.org/10.1080/03639045.2019.1640722
19. Adkison K, Wolstenholme A, Lou Y, et al. Effect of Sorbitol on the Pharmacokinetic Profile of Lamivudine Oral Solution in Adults: An Open-Label, Randomized Study. Clin Pharmacol Ther. 2018;103(3):402-408. doi:10.1002/cpt.943
20. Villalobos-García D., Ayhllon-Osorio C.A., Hernández-Muñoz R. The fructose-dependent acceleration of ethanol metabolism. Biochem Pharmacol. 2021; 188:114498. doi: 10.1016/j.bcp.2021.114498
21. West C. D., Rapoport S. Modification of Colorimetric Method for determination of Mannitol and Sorbitol in Plasma and Urine. Experimental Biology and Medicine. 1949;70(1):141-142. DOI: https://
doi.org/10.3181/00379727-70-16853
22. Corcoran A. C., Page I. H. A method for the determination of mannitol in plasma and urine. Journal of Biological Chemistry. 1947;5(1):130.
23. Trofimets, E. I. Obtaining urine samples from laboratory animals (review) / E. I. Trofimets, A. E. Katelnikova, K. L. Kryshen // Laboratory animals for scientific research. – 2021. – No. 1. – P. 30-47. – DOI 10.29296/2618723X-2021-01-04.

УДК: 616.36-07:619
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.91

ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ D-ГЛЮЦИТОЛА У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ В КОНТЕКСТЕ ОЦЕНКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ

Андреева Н.Л.* – д-р биол. наук, проф., проф. каф. фармакологии и токсикологии; **Понамарев В.С.** – канд. ветеринар. наук, ст. преп. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-6852-3110); **Погодаева П.С.** – канд. ветеринар. наук, асс. каф. биохимии и физиологии (ORCID 0000-0001-7115-5921); **Кострова А.В.** – асп.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
*farm07@mail.ru

Ключевые слова: *гепатобилиарная система, клиренс-тест, D-глюцитол, фармакокинетика.*

Keywords: *hepatobiliary system, clearance test, caffeine, D-Glucitol, pharmacokinetics.*

Благодарности: *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-26-00005, https://rscf.ru/project/ 24-26-00005*

Поступила: 19.01.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Одним из наиболее развивающихся методов оценки состояния гепатобилиарной системы является динамический клиренс-метод (оценка клиренса путём изучения фармакокинетических параметров). Клиренс представляет собой меру скорости, с которой определенное (чаще всего наиболее фармакодинамически связанное с изучаемой системой) вещество элиминируется из организма. Данный метод позволяет не только диагностировать заболевания печени, но и определить их степень тяжести и динамику изменений в процессе дальнейшей фармакотерапии. Цель настоящего исследования- провести экспериментальное исследование, направленное на изучение изменений фармакокинетики экзогенного сорбитола в плазме крови лабораторных животных, что позволит установить отправные точки для дальнейшей оценки изменений его элиминационных свойств при гепатобилиарных патологиях. Уровень D-глюцитола определялся методом Коркорана и Пейджа с модификацией в течение 12 часов (шаг – 2 часа) в депротеинизированной плазме, получаемой путём венепункции хвостовой вены, после введения экспериментальной композиции на основе D-глюцитола. Временные интервалы выбирались исходя из зарегистрированного периода полувыведения препарата. По результатам исследования нами отмечались следующие закономерности в биотрансформации D-глюцитола: линейное повышение концентрации до 6 часов после введения (с пиком в 6 часов) линейное снижение в период с 6 до 8 часов после введение, затем – резкое снижение концентрации. Таким образом, тип элиминации D-глюцитола у клинически здоровых животных можно оценить как «линейный». В процессе дальнейших исследований планируется разработка специальных "кривых элиминации D-глюцитола". Эти графики отражают динамику удаления экзогенного D-глюцитола в зависимости от времени при различных гепатобилиарных нарушениях.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Разработка клиренс-методов оценки состояния гепатобилиарной системы представляет собой одним из перспективных диагностических механизмов в современной ветеринарной медицине [1-3]. Гепатобилиарная система, включающая в себя печень, желчные пути и желчный пузырь, играет ключевую роль в элиминации эндо- и экзогенных веществ, синтезе биохимических компонентов, а также в процессе пищеварения. Поэтому определение ее функционального состояния является актуальной задачей в контексте проведения обследования животных и выявления различных, связанных с данной системой, патологий.

Одним из наиболее развивающихся методов оценки состояния гепатобилиарной системы является динамический клиренс-метод (оценка клиренса путём изучения фармакокинетических параметров). Клиренс представляет собой меру скорости, с которой определенное (чаще всего наиболее фармакодинамически связанное с изучаемой системой) вещество элиминируется из организма. Данный метод позволяет не только диагностировать заболевания печени, но и определить их степень тяжести и динамику изменений в процессе дальнейшей фармакотерапии [4].

Клиренс-методы имеют свои преимущества перед другими методами оценки функции гепатобилиарной системы. Во-первых, они являются более точными, поскольку позволяют оценить непосредственно процесс выведения вещества из организма. Более того, клиренс-методы могут быть использованы для оценки функций не только печени, но и желчных путей, что делает их более универсальными и полезными в клинической практике.

В настоящее время методы клиренса становятся все более доступными и точными, что в свою очередь содействует диагностике и лечению заболеваний гепатобилиарной системы.

Разработка клиренс-методов оценки состояния гепатобилиарной системы является сложной задачей, требующей научных исследований (с целью накопления статистически достоверных данных о фармакокинетических параметрах различных веществ), проведения клинических испытаний, совершенствования технологий проведения данных тестов, а также расширения арсенала тех экзогенных субстанций, которые возможно будет целесообразно использовать без вреда для организма животного. Одним из подобных соединений является D-глюцитол (название по международной номенклатуре IUPAC, общепринятое «сорбитол») [5,6], количество которого без экзогенного введения практически невозможно определить в биологических жидкостях животных по причине незначительности его следовых концентраций в процессе естественного метаболизма[7,8], а также в связи с его высокой тропностью к тканям гепатобилиарной системы (до 98%)[9].

Цель настоящего исследования- провести экспериментальное исследование, направленное на изучение изменений первичной фармакокинетики экзогенного сорбитола в плазме крови лабораторных животных, что позволит установить отправные точки для дальнейшей оценки изменений его элиминационных свойств при гепатобилиарных патологиях, путем построения графика и дальнейшего практического графического наложения на аналогично построенные «кривые элиминации», демонстрирующие первичные фармакокинетические данные при различных патологиях гепатобилиарной системы

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводились в виварии кафедры фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ.

Исследования были проведены в соответствии принципами Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей, правилами надлежащей лабораторной и клинической (GLP и GCP) практики, а также требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22

сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях[10,11]. Дизайн исследования одобрен комиссией по биоэтике ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

Для проведения данного исследования, нами были использованы нелинейные лабораторные крысы (10 самцов и 10 самок, средняя живая масса которых составляла около 200 г с погрешностью 5%, возраст исследуемых крыс составлял 3-4 месяца). Условия кормления и содержание подопытных животных было организовано в соответствии с методическими рекомендациями [12,13]. По результатам оценки классических клинико-биохимических параметров, подопытные животные были оценены как клинически здоровые [14]. В связи с тем, что наиболее стабильные и статистически значимые фармакокинетические показатели D-глюцитола фиксируется в депротеинизированной плазме, а пероральный путь введения в большинстве случаев не характеризуется определяемыми уровнями в плазме уровнями по причине моментального включения в полиольный (сорбитол-альдозоредуктазный) путь метаболизма глюкозы [5-9], нами была изготовлена экспериментальная композиция для внутривенного введения: беспримесный пищевой сорбит смешивался с водой для инъекций, до достижения концентрации 200мг/мл; стерильность и апирогенность полученного раствора достигалась методом мембранной фильтрации согласно «ОФС.1.1.0016.15 Стерилизация» и «ОФС.1.2.4.0005.15 Пирогенность»; показатели растворимости, цветности, прозрачности, вязкости и водородного показателя контролировались и соответствовали «ФС 5583.1 Сорбитол»[15].

Из подопытных животных были сформированы опытная и контрольная группы (по 5 самок и 5 самцов в каждой), подопытной внутривенно вводился вышеописанный экспериментальный раствор из расчёта 10 мг/кг в пересчёте на чистый D-глюцитол, так как данная дозировка является рекомендуемой согласно литературным источникам[16]. Контрольная группа использовалась с целью оценки возможной перекрёстной чувствительности с глюкозой, исходя из специфики метода детекции D-глюцитола, животным вводился эквивалентный объём физиологического раствора.

Уровень D-глюцитола определялся колориметрическим методом Коркорана и Пейджа с модификацией (с использованием периодата калия и хромотроповой кислоты, в методике учитывается расчетный показатель D-сорбитола из суммы полиолов) [17,18] с использованием спектрофотометра УФ-100 (производитель - "Shanghai Mapada Instruments Co., Ltd.", Китай) в течение 12 часов (шаг – 2 часа) в депротеинизированной плазме, получаемой путём венепункции хвостовой вены [19,20]. Предпочтение данной методике было обусловлено её доступностью и экономической эффективностью, а также соответствием грантовому соглашению с Российским научным фондом №24-26-00005. Общий объём отобранной цельной крови не превышал 1 мл. Временные интервалы выбирались исходя из зарегистрированного периода полувыведения препарата. Математико-статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы STATISTICA 6.1. Рассчитывали среднюю арифметическую (M) и ее среднюю ошибку (m), расчет достоверности разницы (p) по критерию Стьюдента не проводился в связи с поисковым характером исследования и отсутствием групп сравнения.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В ходе эксперимента нами не отмечались негативные реакции в ответ на введение экспериментального раствора. У контрольной группы животных D-глюцитол не был обнаружен, что объясняется наличием вещества в физиологических концентрациях (при отсутствии экзогенного введения), находящихся ниже предела чувствительности метода определения. Уровни D-глюцитола в депротеинизированной плазме подопытной группы представлены в таблице 1 и на рисунке 1.

Таблица 1 – Уровень D-глюцитола в депротеинизированной плазме (в мкмоль/л, с округлением до целого значения) после введение экспериментального раствора у подопытных крыс (n=5)

Т после введения / пол животных	♂	♀
2 часа	148 ±3	151 ±2
4 часа	164 ± 4	162 ±3
6 часов	171 ±7	173 ±5
8 часов	167 ±4	169 ±3
12 часов	138 ±5	142 ±3

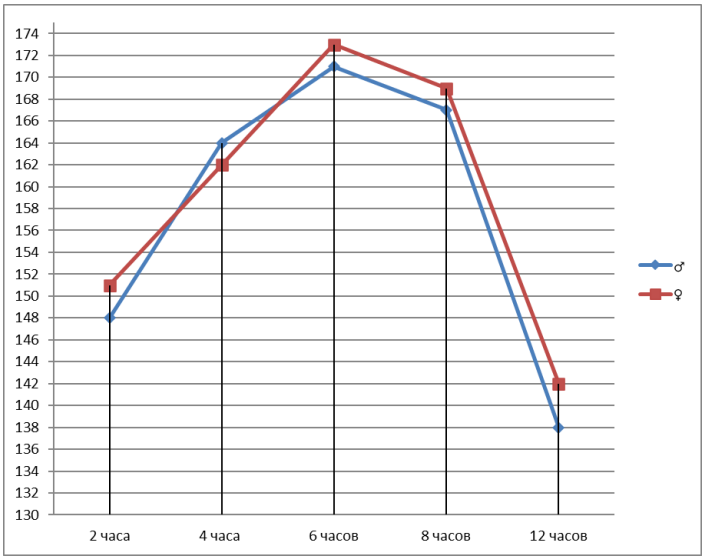


Рисунок 1 – Уровень D-глюцитола в депротеинизированной плазме (в мкмоль/л, с округлением до целого значения) после введение экспериментального раствора у подопытных крыс (n=5)

При анализе полученных данных было установлено отсутствие связи между состоянием метаболизма D-глюцитола у самок и самцов. Этот результат подтверждает выводы других исследователей и дает нам основание отказаться от использования этого показателя для дальнейшего анализа.

По результатам исследования нами отмечались следующие закономерности в биотрансформации D-глюцитола: линейное повышение концентрации до 6 часов после введения (с пиком в 6 часов), что можно объяснить некоторой временной задержкой включения вещества в полиоловый метаболический путь, линейное снижение в период с 6 до 8 часов после введение, затем – резкое снижение концентрации. Таким образом, тип элиминации D-глюцитола у клинически здоровых животных можно оценить как «линейный».

Линейная элиминация экзогенного вещества – это процесс, при котором химическое соединение, введенное в организм, подвергается последовательному (закономерному) выводу из систем органов и тканей. Этот процесс обеспечивает выведение из организма самого вещества и его метаболитов, предотвращает их накопление и связанное с этим токсическое действие. Построенные график элиминации D-глюцитола свидетельствует о характере первичных фармакокинетических данных, которые в дальнейшем могут быть использованы в качестве эталона, для сравнения с фармакокинетическими кривыми при различных патологиях (в т.ч. путём графического наложения на аналогично построенные «кривые элиминации», демонстрирующие первичные

фармакокинетические данные при различных патологиях гепатобилиарной системы).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Построение кинетических кривых является неотъемлемой частью фармакологических исследований и имеет важное значение для понимания динамики воздействия экзогенных веществ на организм. Изучение фармакокинетических параметров и последующее построение специальных графиков позволяют оценить скорость и масштабы процессов всасывания, распределения, метаболизма и выведения препарата из организма.

В процессе дальнейших исследований планируется разработка специальных "кривых элиминации D-глюцитола". Эти графики будут отражать динамику удаления экзогенного D-глюцитола в зависимости от времени при различных гепатобилиарных нарушениях. Их целью будет определение тех уровней D-глюцитола, которые, исходя из вектора графика удаления, позволят делать выводы о функциональном состоянии печени. Такие исследования направлены на изучение фундаментальных особенностей в исследовании прогностических функций изменений клиренса различных фармацевтических веществ.

PHARMACOKINETIC PARAMETERS OF D-GLUCITOL IN LABORATORY ANIMALS IN THE CONTEXT OF ASSESSING THE FUNCTIONAL STATE OF THE LIVER

Andreeva N.L. * – d. biol. Sc., prof. department pharmacology and toxicology, **Ponamarev V.S.** – senior lecturer., Ph.D. of Veterinary Science (ORCID 0000-0002-6852-3110), **Pogodaeva P.S.** – ass. department Biochemistry and Physiology, Ph.D. of Veterinary Science (ORCID 0000-0001-7115-5921), **Kostrova A.V.** – graduate student

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "St. Petersburg State University of Veterinary Medicine"

*farm07@mail.ru

Acknowledgments: *The study was supported by the Russian Science Foundation Grant No. 24-26-00005, https://rscf.ru/project/24-26-00005.*

ABSTRACT

One of the most developing methods for assessing the state of the hepatobiliary system is the dynamic clearance method (assessment of clearance by studying pharmacokinetic parameters). Clearance is a measure of the rate at which a specific (usually most pharmacodynamically related to the system being studied) substance is eliminated from the body. This method allows not only to diagnose liver diseases, but also to determine their severity and the dynamics of changes in the process of further pharmacotherapy. The purpose of this study is to conduct an experimental study aimed at studying changes in the pharmacokinetics of exogenous sorbitol in the blood plasma of laboratory animals, which will establish starting points for further assessment of changes in its elimination properties in hepatobiliary pathologies. The level of D-glucitol was determined by the Corcoran and Page method with modification for 12 hours (step - 2 hours) in blood serum obtained by venipuncture of the tail vein, after administration of an experimental composition based on D-glucitol. Time intervals were selected based on the reported half-life of the drug. Based on the results of the study, we noted the following patterns in the biotransformation of D-glucitol: a linear increase in concentration up to 6 hours after administration (with a peak at 6 hours), a linear decrease in the period from 6 to 8 hours after administration, then a sharp decrease in concentration. Thus, the type of elimination of D-glucitol in clinically healthy animals can be assessed as “linear”. In the process of further research, it is planned to develop special “D-glucitol elimination curves”. These graphs will show the dynamics of exogenous D-glucitol removal over time in various hepatobiliary disorders.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Клиренс-тесты как метод диагностики

патологий гепатобилиарной системы у животных / В. С. Понамарев, О. С. Попова, А. В. Кострова, Л. А. Агафонова // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2023. – Т. 24, № 6. – С. 924-938. – DOI 10.30766/2072-9081.2023.24.6.924-938.

2.Краснов О. А., Павленко В. В., Краснов А. О. Клиническая и прогностическая значимость критериев оценки функциональных резервов печени при заболеваниях печени и выполнении ее резекции. Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. 2014;17(4):66-77.

3.Рапопорт С. И., Шубина Н. А. Дыхательные тесты в диагностике заболеваний печени. Клиническая медицина. 2016;94 (12):885-892. DOI: https:// doi.org/10.18821/0023-2149-2016-94-12-885-892

4.Обзор современных методов диагностики заболеваний гептобилиарной системы / О. С. Попова, В. С. Понамарев, А. В. Кострова, Л. А. Агафонова // Международный вестник ветеринарии. – 2023. – № 1. – С. 113-122. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.1.113.

5.Insights into the evolution of sorbitol metabolism: phylogenetic analysis of SDR196C family / A. Sola-Carvajal, M. I. García-García, F. García-Carmona, Á. Sánchez-Ferrer // BMC Evolutionary Biology. – 2012. – Vol. 12, No. 1. – P. 1-14. – DOI 10.1186/1471-2148-12-147.

6.Evaluation of a sorbitol dehydrogenase inhibitor on diabetic peripheral nerve metabolism: A prevention study / I. G. Obrosova, L. Fathallah, D. A. Greene, H. J. Lang // Diabetologia. – 1999. – Vol. 42, No. 10. – P. 1187-1194. – DOI 10.1007/s001250051290.

7.Primary metabolism changes in transgenic apple plants with reduced activity of sorbitol dehydrogenase / F. Martinelli, S. Uratsu, S. Yousefi [et al.] // European Journal of Horticultural Science. – 2022. – Vol. 87, No. 3. – DOI 10.17660/ejhs.2022/033.

8.Цветкова, М. А. Адаптивная динамика сорбита и активности сопутствующих ферментов в пищеварительной железе речной живородки / М. А. Цветкова, И. Л. Цветков // Актуальные проблемы биологической и химической экологии: Сборник материалов VI Международной научно-практической конференции, Мытищи/ –Московский государственный областной университет, 2019. – С. 238-241.

9.Цветков, И. Л. Стрессиндуцированная динамика накопления сорбита и активности сопутствующих ферментов в пищеварительной железе живородки речной / И. Л. Цветков, А. С. Коничев // Биохимия. – 2009. – Т. 74, № 11. – С. 1548-1555.

10.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/168007a6a8.Ссылка активна на 14 января 2023 г.

11.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:2010:276:0033:0079:en:PDF. Ссылка активна на 14 января 2023 г.

12.Медведев, А. П. Основы анатомии, физиологии, содержания и использования лабораторных животных / А. П. Медведев, А. А. Вербицкий. - Витебск: Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины ", 2016. - 204 с. -. ISBN: 978-985-512-930-2

13.Методические рекомендации по содержанию лабораторных животных в виварий научно-исследовательских институтов и учебных заведений РД-АПК 3.10.07.02-09 (утв. Министерством сельского хозяйства РФ 1 декабря 2009 г.)

14.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.

15.Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания

16.Ramadan G. A. Sorbitol-induced diabetic -like retinal lesions in rats: microscopic study //American Journal of Pharmacology

and Toxicology. – 2007. – Т. 2. – №. 2. – С. 89-97.
17. West C. D., Rapoport S. Modification of Colorimetric Method for determination of Mannitol and Sorbitol in Plasma and Urine. Experimental Biology and Medicine. 1949;70(1):141-142. DOI: https:// doi.org/10.3181/00379727-70-16853
18.Corcoran A. C., Page I. H. A method for the determination of mannitol in plasma and urine. Journal of Biological Chemistry. 1947;5(1):130.
19.Васильева С.В., Карпенко Л.Ю., Душенина О.А. Поиск оптимальных способов забора крови у лабораторных крыс в условиях хронического опыта. Генетика и разведение животных. 2022;(4):56-60. DOI: 10.31043/2410-2733-2022-4-56-60
20.Душенина, О. А. Анализ методов взятия крови у экспериментальных крыс / О. А. Душенина, Л. Ю. Карпенко, С. В. Васильева // Ветеринария Кубани. - 2022. - № 6. - С. 21-24. 10.33861/2071-8020 -2022-6-21-24.

REFERENCES

1.Clearance tests as a method for diagnosing pathologies of the hepatobiliary system in animals / V. S. Ponamarev, O. S. Popova, A. V. Kostrova, L. A. Agafonova // Agricultural Science of the Euro-North-East. – 2023. – T. 24, No. 6. – P. 924-938. – DOI 10.30766/2072-9081.2023.24.6.924-938.
2.2. Krasnov O. A., Pavlenko V. V., Krasnov A. O. Clinical and prognostic significance of criteria for assessing the functional reserves of the liver in liver diseases and its resection. Issues of reconstructive and plastic surgery. 2014;17(4):66-77.
3.3. Rapoport S.I., Shubina N.A. Breathing tests in the diagnosis of liver diseases. Clinical medicine. 2016;94(12):885-892. DOI: https://doi.org/10.18821/0023-2149-2016-94-12-885-892
4. Review of modern methods for diagnosing diseases of the heptobiliary system / O. S. Popova, V. S. Ponamarev, A. V. Kostrova, L. A. Agafonova // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2023. – No. 1. – P. 113-122. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.1.113.
5. Insights into the evolution of sorbitol metabolism: phylogenetic analysis of SDR196C family / A. Sola-Carvajal, M. I. García-García, F. García-Carmona, A. Sánchez-Ferrer // BMC Evolutionary Biology. – 2012. – Vol. 12, No. 1. – P. 1-14. – DOI 10.1186/1471-2148-12-147.
6. Evaluation of a sorbitol dehydrogenase inhibitor on diabetic peripheral nerve metabolism: A prevention study / I. G. Obrosova, L. Fathallah, D. A. Greene, H. J. Lang // Diabetologia. – 1999. – Vol. 42, No. 10. – P. 1187-1194. – DOI 10.1007/s001250051290.
7. Primary metabolic changes in transgenic apple plants with reduced activity of sorbitol dehydrogenase / F. Martinelli, S. Uratsu, S. Yousefi [et al.] // European Journal of Horticultural Science. – 2022. – Vol. 87, No. 3. – DOI 10.17660/ejhs.2022/033.
8. Tsvetkova, M. A. Adaptive dynamics of sorbitol and the activity of accompanying enzymes in the digestive gland of the river viviparus / M. A. Tsvetkova, I. L. Tsvetkov // Current problems of biological and chemical ecology: Collection of materials of the VI International Scientific and Practical Conference, Mytishchi/–Moscow State Regional University, 2019. – P. 238-241.
9. Tsvetkov, I. L. Stress-induced dynamics of sorbitol accumulation and the activity of accompanying enzymes in the digestive gland of the river viviparus / I. L. Tsvetkov, A. S. Konichev // Biochemistry. – 2009. – T. 74, No. 11. – P. 1548-1555.
10. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental or Other Scientific Purposes (Strasbourg, 18 March 1986). Available at: https://rm.coe.int/168007a6a8. Link active 14 January 2023.
11. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Available from: https://eurlex.europa.eu/LexUriServ/ LexUriServ.do? uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:en:PDF. Link active as of January 14, 2023
12. Medvedev, A. P. Fundamentals of anatomy, physiology, maintenance and use of

laboratory animals / A. P. Medvedev, A. A. Verbitsky. - Vitebsk: Educational Institution "Vitebsk Order of the Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine", 2016. - 204 p. -. ISBN: 978-985-512-930-2
13. Guidelines for keeping laboratory animals in vivariums of research institutes and educational institutions RD-APK 3.10.07.02-09 (approved by the Ministry of Agriculture of the Russian Federation on December 1, 2009)
14. Biochemistry of the liver and laboratory assessment of its physiological and biochemical state: educational manual / O. S. Belonovskaya, A. A. Lisitsyna, L. Yu. Karpenko, A. A. Bakhta. - St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2014. - 116 p.
15. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XV edition
16. Ramadan G. A. Sorbitol-induced diabetic -like retinal lesions in rats: microscopic study //American Journal of Pharmacology and Toxicology. – 2007. – Т. 2. – №. 2. – С. 89-97.
17. West C. D., Rapoport S. Modification of Colorimetric Method for determination of Mannitol and Sorbitol in Plasma and Urine. Experimental Biology and Medicine. 1949;70(1):141-142. DOI: https://doi.org/10.3181/00379727-70-16853
18. Corcoran A. C., Page I. H. A method for the determination of mannitol in plasma and urine. Journal of Biological Chemistry. 1947;5(1):130.
19. Vasilyeva S.V., Karpenko L.Yu., Dushenina O.A. Search for optimal methods for collecting blood from laboratory rats under conditions of chronic experiment. Genetics and animal breeding. 2022;(4):56-60. DOI: 10.31043/2410-2733-2022-4-56-60
20. 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. - P. 21-24. 10.33861/2071-8020 -2022-6-21-24.

УДК: 615.9-07:615.31:577.118:639.3.034
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.99

ДЕХОРИОНИЗАЦИЯ ЭМБРИОНОВ *DANIO RERIO* ДЛЯ ОЦЕНКИ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ОРГАНОМИНЕРАЛЬНЫХ ХЕЛАТНЫХ КОМПЛЕКСОВ

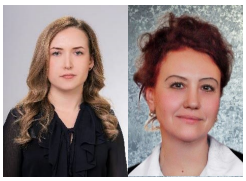
Полистовская П.А. – канд. биол. наук., доц. кафедры биохимии и физиологии; **Карпенко Л.Ю.** – д-р биол. наук, проф., зав. каф. биохимии и физиологии; **Махнин И.А.**[*] – асп. 1-го года обучения, асс. кафедры биохимии и физиологии; **Ажикина О.Ю.** – асп. 2-го года обучения.

ФГБОУ ВО "Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины"
*ilya.makh@mail.ru

Ключевые слова: *токсикология, Danio rerio, дехорионизированные эмбрионы, хелатные комплесы*
Keywords: *toxicology, Danio rerio, dehorionized embryos, chelated complexes*

Финансирование: *Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда 23-76-01042*, https://rscf.ru/project/23-76-01042/

Поступила: 19.01.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024



РЕФЕРАТ

Одним из основных вопросов при работе с эмбрионами рыб является пропускная способность хориона. Считается, что тяжелые металлы тоже могут блокироваться хорионом. В контексте изучения острой токсичности органоминерального хелатного комплекса, содержащего в своем составе такие металлы как железо, марганец, медь, цинк, кобальт, требуется модификация стандартных тестов. Возможным подходом при изучении влияния хориона на результаты острой токсичности, может стать удаление хориона (дехорионизация). Целью исследования было сравнение чувствительности дехорионизированных эмбрионов при оценке острой токсичности органоминеральных хелатных комплексов. Исследования проводили на кафедре биохимии и физиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины». Объектом исследования служили эмбрионы *Danio rerio*. Для получения икры родительские пары ссаживали в нерестовые отсадники. Дехорионизацию проводили механическим способом на 24 hpf (стадия фарингулы). После дехорионизации эмбрионы переносили в покрытые агарозой лунки 24-луночных планшетов, заполненные 2 мл раствора на лунку. В ходе исследования было изготовлено было 15 концентраций исследуемого БАД, различающихся в 2,0 раза (64...0,0039 г/л). Рабочие концентрации готовили путем разведения БАД средой Е3. Были получены результаты сравнения чувствительности де- и недехорионизированных эмбрионов при оценке острой токсичности органоминеральных хелатных комплексов. Показано, что LC_{50} исследуемого препарата для недехорионизированных эмбрионов составляет 3,754 г/л, для дехорионизированных эмбрионов LC_{50} составляет 2,326 г/л. Данные свидетельствуют о том, что удаление хориона приводит к увеличению токсичности препарата для эмбрионов *Danio rerio.*

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

На сегодняшний день *Danio rerio* (Zebrafish) это общепризнная модель для биомедицинских и экотоксикологических исследований [1]. Тест-модель широко используется для тестирования безопасности химических веществ, таких как лекарственные препараты, пестициды и другие промышленные химикаты [2]. Это связано с тем, что они имеют высокую чувствительность к различным токсическим веществам, и их ответ на экспозицию может быть легко измерен [3]. Преимуществами Danio rerio как экспериментальной модели являются небольшие размеры, высокий коэффициент рождаемости, недорогое содержание и быстрое развитие [4].

Одним из основных вопросов при работе с эмбрионами рыб является пропускная способность хориона. Было показано, что хорион способен задерживать соединения массой свыше 3 кДа [5]. Предполагается, что полимеры и поверхностно-активные вещества также могут блокироваться хорионом, поскольку сравнение острой токсичности для эмбрионов и элеутероэмбрионов, показало более высокую чувствительность у элеутероэмбрионов [6]. Считается, что тяжелые металлы тоже могут блокироваться хорионом [7]. В контексте изучения острой токсичности органоминерального хелатного комплекса, содержащего в своем составе такие металлы как железо, марганец, медь, цинк, кобальт, требуется модификация стандартных тестов.

Возможным подходом при изучении влияния хориона на результаты острой токсичности, может стать удаления хориона (дехорионизация) [8]. На сегодняшний день разработаны два способа удаления хориона *Danio rerio*: химический (например, с помощью проназы – смеси протеиназ *Streptomyces griseus*); механический (с помощью пинцетов или препаровальных игл) [9-10]. Таким образом целью исследования было сравнение чувствительности дехорионизированных эмбрионов при оценке острой токсичности органоминеральных хелатных комплексов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводили на кафедре биохимии и физиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины». Объектом исследования служили эмбрионы Danio rerio. Родительские пары (n=10) содержались в аквариумах, при интенсивность света 300–330 лк; фотопериод: 14 часов свет/10 часов темнота. Температура воды поддерживалась на уровне 28 ± 0,5 ° С. Кормление взрослых особей осуществлялось 2 раза в день (сухие гранулы корма Tetra Min Granules - ежедневно; 1 раз в 3 дня креветки (*Artemia sp.*).

Родительские пары ссаживали в нерестовые отсадники и оставляли до получения икры. После нереста, икру сортировали (выбрасывали неоплодотворенные яйцеклетки) и промывали средой Е3 (состав среды см. Таблицу 1), после чего пересаживали в 24-х луночные планшеты (по одной икринке в каждую лунку).

Исследовали органоминеральный хелатный комплекса (ООО “Хеламакс”, Россия). Действующая основа биологически активной добавки (далее БАД): комплекс глицина с микроэлементами (Fe,Mg, Mn, Cu, Zn, Co, Se, I). Микроэлементный состав хелатного комплекса представлен в таблице 2.

Хелатный комплекс (многокомпонентная субстанция) представлял собой раствор темно-коричневого цвета, без запаха, хорошо растворимый в воде и нерастворимый в органических растворителях, pH раствора БАД - 6,7

В ходе исследования было изготовлено было 15 концентраций исследуемого БАД, различающихся в 2,0 раза (64...0,0039 г/л). Рабочие концентрации готовили путем разведения БАД средой Е3.

Дехорионизацию проводили механическим способом на 24 hpf (часов после оплодотворения, стадия фарингулы) [8,10]. После дехорионизации эмбрионы переносили в покрытые агарозой лунки 24-луночных планшетов, заполненные 2

мл раствора на лунку.

Планшеты во время испытаний были закрыты прозрачными крышками во избежание испарения. Исследования проводили в статических условиях.

Икру распределяли в лунки планшетов в следующем количестве (в соответствии с OECD №236):

20 икринок на один планшет для каждой испытуемой концентрации;

20 икринок в качестве контроля среды Е3 на один планшет (отрицательный контроль);

20 икринок в качестве положительного контроля на один планшет (3,4-DCA4 мг/л);

4 икринки в среде Е3 в качестве внутреннего контроля в планшете на каждую концентрацию

Эмбрионы инкубировали при температуре 28,5оС. Развитие дехорионизированных эмбрионов проверяли через 24, 48, 72 и 96 часов после дехорионизации, т.е. через 48, 72, 96 и 120 часов после оплодотворения [10]. Данные сравнивали с недехорионизированными эмбрионами. Условия инкубации недехорионизированных эмбрионов были аналогичны описанным ранее условиям.

Наблюдения проводили под стереомикроскопом (МБС-10М, Россия), в ходе которых фиксировали следующие патологии: отсутствие спонтанных движений, деформацию эмбрионов, отсутствие сердцебиения, другие нарушения развития сердечнососудистой системы, общая задержка развития, задержка пигментации, формирования отека (отек перикарда, отек желточного мешка).

Определяли следующие показатели: % погибших дехорионизированных и недехорионизированных эмбрионов, максимальную концентрацию, не вызывающую гибель во время проведения испытания; минимальную концентрацию, вызывающую 100 % гибель во время проведения испытания; значение LC50 через 96 ч с 95 % доверительным интервалом.

Таблица 1 – Электролитный состав водной среды для культивирования эмбрионов [11]

NaCl	KCl	$CaCl_2$	$MgSO_4$
0,292 г/л	0,013 г/л	0,044 г/л	0,081 г/л

Таблица 2 – Микроэлементный состав исследуемого органоминерального хелатного комплекса [12]

Микроэлемент	**Содержание г/л**
Железо	20
Магний	8,9
Марганец	14
Медь	2,1
Цинк	18
Кобальт	0,24
Селен	0,24
Йод	0,52
Общее количество (сумма) элементов	64

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Проведено сравнение чувствительности дехорионизированных эмбрионов при оценке острой токсичности органоминеральных хелатных комплексов. Гибели эмбрионов в отрицательном и внутреннем контроле не наблюдалось. Смертность эмбрионов в положительном контроле составила 95% – для дехорионизированных эмбрионов и 85% - для недехорионизированных эмбрионов. В качестве положительного контроля использовали ацетон, поскольку стандартное вещество используемое для теста (3,4-

дихлоранилин), проявляет свою токсичность в течение первых 24 часов развития [8].

Результаты экспериментов (таблица 3) показали, что при экспозиции эмбрионов в растворах с концентрациями органоминерального хелатного комплекса 16-64 г/л наблюдается гибель 100% эмбрионов.

Определена максимальная концентрация не вызывающая гибели во время проведения испытания, для недехорионизированных эмбрионов она составляет - 0,25 г/л; для дехорионизированных эмбрионов - 0,0625 г/л. Показана минимальная концентрация вызывающая 100% гибель во время проведения испытаний - 16 г/л для недехорионизированных и дехорионизированных эмбрионов.

Основываясь на результатах выживаемости эмбрионов *Danio rerio*, была рассчитана медианно-смертельная концентрация органоминерального хелатного комплекса. LC50 исследуемого препарата для недехорионизированных эмбрионов составляет 3,754 г/л, в тоже время для дехорионизированных эмбрионов LC50 - 2,326 г/л. Полученные результаты, подтверждают необходимость проведения токсикологических тестов при оценке минеральных препаратов. Следует отметить, что токсичность минеральных компонентов была показана рядом других исследований. Например, было обнаружено, что применение солей меди, цинка и железа приводит к задержке скорости вылупления и вызывает различные пороки развития (отек желточного мешка, отек перикарда, кровоизлияния, сморщивание хориона и сколиоз) [13-16].

Кроме того, полученные нами данные, демонстрируют, что хорион способен задерживать компоненты органоминеральных хелатных комплексов. Нами показано, что удаление хориона приводит к увеличению токсичности препарата для эмбрионов *Danio rerio*. Подобные результаты согласуются и с другими авторами [8,10].

Таблица 3 – Выживаемость дехорионизрованных и недехорионизированных эмбрионов *Danio rerio* при инкубации с различными концентрациями органоминерального хелатного комплекса

Концентрация г/л	Гибель дехорионизированных эмбрионов, %	Гибель недехорионизированных эмбрионов, %
64	100	100
32	100	100
16	100	100
8	75	65
4	55	50
2	50	40
1	35	25
0,5	25	10
0,25	10	0
0,125	5	0
0,0625	0	0
0,0312	0	0
0,0156	0	0
0,0078	0	0
0,0039	0	0
“+” контроль	95	85
“-” контроль	0	0

Примечание: “+” – положительный контроль (обработка ацетоном) “-” - отрицательный контроль (инкубация эмбрионов в среде Е3).

ВЫВОДЫ/ CONCLUSION

Таким образом получены результаты сравнения чувствительности де- и недехорионизированных эмбрионов при оценке острой токсичности органоминеральных хелатных комплексов. Показано, что LC50 исследуемого препарата для недехорионизированных эмбрионов составляет 3,754 г/л, для дехорионизированных эмбрионов LC50 составляет 2,326 г/л. Данные свидетельствуют о том, что хорион способен задерживать компоненты органоминерального хелатного комплекса, удаление хориона приводит к увеличению токсичности препарата для эмбрионов *Danio rerio*. Применение метода дехорионизации необходимо при проведении ряда токсикологических исследований на эмбрионах Zebrafish.

DEHORIONIZATION OF DANIO RERIO EMBRYOS TO ASSESS THE ACUTE TOXICITY OF ORGANOMINERAL CHELATE COMPLEXES

Polistovskaya P.A. – PhD., associate Professor of the Department of Biochemistry and Physiology; **Karpenko L.Yu.** – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department. Biochemistry and physiology; **Makhnin I.A.*** – post-graduate student of the 1st year of study, assistant of the Department of Biochemistry and Physiology; **Azhikina O.Yu.** – graduate student of the 2nd year of study. St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* ilya.makh@mail.ru

Financing: *The study was supported by a grant from the Russian Science Foundation 23-76-01042, https://rscf.ru/project/23-76-01042/*

ABSTRACT

One of the main issues when working with fish embryos is the throughput of the chorion. It is believed that heavy metals can also be blocked by chorion. In the context of studying the acute toxicity of an organomineral chelate complex containing metals such as iron, manganese, copper, zinc, and cobalt, modification of standard tests is required. A possible approach to studying the effect of chorion on the results of acute toxicity may be the removal of chorion (dehorionization). The aim of the study was to compare the sensitivity of dehorionized embryos in assessing the acute toxicity of organomineral chelate complexes. The research was conducted at the Department of Biochemistry and Physiology of the St. Petersburg State University of Veterinary Medicine. The object of the study was the embryos of Danio rerio. To obtain caviar, the parent pairs were planted in spawning jigs. Dehorionization was performed mechanically at 24 hpf (pharyngula stage). After dehorionization, the embryos were transferred to agarose-coated wells of 24-well tablets filled with 2 ml of solution per well. During the study, 15 concentrations of the studied dietary supplement were produced, varying by 2.0 times (64...0.0039 g/l). Working concentrations were prepared by diluting dietary supplements with E3 medium. The results of comparing the sensitivity of de- and non-dehorionized embryos in assessing the acute toxicity of organomineral chelate complexes were obtained. It was shown that the LC50 of the studied drug for non-dehorionized embryos is 3.754 g/l, for dehorionized embryos the LC50 is 2.326 g/l. The data indicate that the removal of the chorion leads to an increase in the toxicity of the drug for Danio rerio embryos.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Kurogi K, Liu TA, Sakakibara Y, Suiko M, Liu MC. The use of zebrafish as a model system for investigating the role of the SULTs in the metabolism of endogenous compounds and xenobiotics. Drug Metab Rev. 2013 Nov;45(4):431-40. doi: 10.3109/03602532.2013.835629. Epub 2013 Sep 12. PMID: 24028174.

2.Качанов Д.А., Лакеенков Н.М, Левикин К.Е, Блаженко А.А и др, Danio rerio (Zebrafish) как универсальный модельный объект в доклинических исследованиях // FORCIPE. 2018. №1.

3.Беттини С., Лаццари М., Феррандо С., Галлус Л., Франческини В. Гистопатоло-

гический анализ обонятельного эпителия рыбок Данио рерио, подвергшихся сублетальному воздействию мочевины. J Anat. 2016 Jan;228(1):59-69. doi: 10.1111/joa.12397. Epub 2015, 29 октября. PMID: 26510631; PMCID: PMC4694166.
4.Fishman MC. Genomics. Zebrafish--the canonical vertebrate. Science. 2001 Nov 9;294(5545):1290-1. doi: 10.1126/science.1066652. PMID: 11701913.R. Creton
5.Creton R. The calcium pump of the endoplasmic reticulum plays a role in midline signaling during early zebrafish development. Brain Res Dev Brain Res. 2004 Jul 19;151(1-2):33-41. doi: 10.1016/j.devbrainres.2004.03.016. PMID: 15246690.
6.T. Braunbeck et al. Towards an alternative for the acute fish LC(50) test in chemical assessment: the fish embryo toxicity test goes multi-species — an update
7.Xander J. H. X. Stouthart, Jeroen L. M. Haans, Robert A. C. Lock, Sjoerd E. Wendelaar Bonga Effects of water pH on copper toxicity to early life stages of the common carp (Cyprinus carpio) Environmental Toxicology and Chemistr Epub 1996 doi.org:10.1002etc.5620150323
8.Henn K, Braunbeck T. Dechorionation as a tool to improve the fish embryo toxicity test (FET) with the zebrafish (Danio rerio). Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol. 2011 Jan;153(1):91-8. doi: 10.1016/j.cbpc.2010.09.003. Epub 2010 Sep 30. PMID: 20869464.
9.Вестерфилд М. Руководство по лабораторному использованию рыбок Данио Рерио. – Юджин: Университет Орегона, США, 2010-564 с.
10.Vokhminova, Daria, Viktor Umansky and Annette Paschen. Dissertation submitted to the Combined Faculties for the Natural Sciences and for Mathematics of the Ruperto -Carola University of Heidelberg, Germany for the degree of Doctor of Natural Sciences Presented by Diplom-Biotechnology. 2010 - 359
11.Cunliffe A. M. et al. Pyrolysis of composite plastic waste. Environmental Technology 24 (2003): 653 - 663.
12.Патент № 2016121770 Российская Федерация RU 2 640 908 C2, 31.05.2016. Микроэлементный препарат для животных: № 2016121770: заявл. 31.05.2016: опубл. 12.01.2018 / Рыжов А.А., Рыжова В.В., Володькина Г.М., Коровицын Е.С. – 7 с.
13.Jezierska B, Ługowska K, Witeska M. The effects of heavy metals on embryonic development of fish (a review). Fish Physiol Biochem. 2009 Nov;35(4):625-40. doi: 10.1007/s10695-008-9284-4. Epub 2008 Nov 20. PMID: 19020985.
14.De Silva, D., Fasmina, M., Jayamanne, S. C., Liyanage, N. P., & Perera, J. Determination of the Toxicity Cause by Trace Metals on Zebrafish (Danio rerio) Embryo. Journal of Aquaculture and Fish Health, 2021, 10(2), 176–185. https://doi.org/10.20473/jafh.v10i2.21496
15.Анализ кратковременного воздействия тяжелых металлов на белковый обмен у карпа / Л. Ю. Карпенко, П. А. Полистовская, А. И. Енукашвили, К. П. Иванова // Международный вестник ветеринарии. – 2020. – № 4. – С. 145-149. – DOI 10.17238/issn2072-2419.2020.4.145.
16.Влияние свинца на изменение показателей углеводного обмена у карпа / Л. Ю. Карпенко, П. А. Полистовская, К. П. Иванова, А. Б. Балыкина // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2019. – № 4. – С. 100-102. – DOI 10.17238/issn2072-6023.2019.4.100.

REFERENCES

1.Kurogi K, Liu TA, Sakakibara Y, Suiko M, Liu MC. The use of zebrafish as a model system for investigating the role of the SULTs in the metabolism of endogenous compounds and xenobiotics. Drug Metab Rev. 2013 Nov;45(4):431-40. doi: 10.3109/03602532.2013.835629. Epub 2013 Sep 12. PMID: 24028174.
2. Kachanov D.A., Lakeenkov N.M., Levikin K.E., Blazhenko A.A. and others, Danio rerio (Zebrafish) as a universal model object in preclinical research // FORCIPE. 2018. No.1.
3. Bettini S., Lazzari M., Ferrando S., Gallus L., Franceschini V. Histopathological analy-

sis of the olfactory epithelium of Danio rerio fish exposed to sublethal urea. J Anat. 2016 Jan;228(1):59-69. doi: 10.1111/joa.12397. Epub 2015, October 29th. PMID: 26510631; PMCID: PMC4694166.
4.Fishman MC. Genomics. Zebrafish--the canonical vertebrate. Science. 2001 Nov 9;294(5545):1290-1. doi: 10.1126/science.1066652. PMID: 11701913.R. Creton
5.Creton R. The calcium pump of the endoplasmic reticulum plays a role in midline signaling during early zebrafish development. Brain Res Dev Brain Res. 2004 Jul 19;151(1-2):33-41. doi: 10.1016/j.devbrainres.2004.03.016. PMID: 15246690.
6.T. Braunbeck et al. Towards an alternative for the acute fish LC (50) test in chemical assessment: the fish embryo toxicity test goes multi-species — an update
7.Xander J. H. X. Stouthart, Jeroen L. M. Haans, Robert A. C. Lock, Sjoerd E. Wendelaar Bonga Effects of water pH on copper toxicity to early life stages of the common carp (Cyprinus carpio) Environmental Toxicology and Chemistr Epub 1996 doi.org:10.1002etc.5620150323
8.Henn K, Braunbeck T. Dechorionation as a tool to improve the fish embryo toxicity test (FET) with the zebrafish (Danio rerio). Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol. 2011 Jan;153(1):91-8. doi: 10.1016/j.cbpc.2010.09.003. Epub 2010 Sep 30. PMID: 20869464.
9. Westerfield M. Guide to the laboratory use of Danio Rerio fish. Eugene: University of Oregon, USA, 2010-564 p.
10. Vokhminova, Daria, Viktor Umansky and Annette Paschen. Dissertation submitted to the Combined Faculties for the Natural Sciences and for Mathematics of the Ruperto -Carola University of Heidelberg, Germany for the degree of Doctor of Natural Sciences Presented by Diplom-Biotechnology. 2010 - 359
11.Cunliffe A. M. et al. Pyrolysis of composite plastic waste. Environmental Technology 24 (2003): 653 - 663.
12. Patent No. 2016121770 Russian Federation RU 2 640 908 C2, 05/31/2016. Microelement preparation for animals : No. 2016121770 : application 05/31/2016 : publ. 12.01.2018 / Ryzhov A.A., Ryzhova V.V., Volodkina G.M., Korovitsyn E.S. – 7 p.
13.Jezierska B, Ługowska K, Witeska M. The effects of heavy metals on embryonic development of fish (a review). Fish Physiol Biochem. 2009 Nov;35(4):625-40. doi: 10.1007/s10695-008-9284-4. Epub 2008 Nov 20. PMID: 19020985.
14.De Silva, D., Fasmina, M., Jayamanne, S. C., Liyanage, N. P., & Perera, J. Determination of the Toxicity Cause by Trace Metals on Zebrafish (Danio rerio) Embryo. Journal of Aquaculture and Fish Health, 2021, 10(2), 176–185. https://doi.org/10.20473/jafh.v10i2.21496
15. Analysis of short-term effects of heavy metals on protein metabolism in carp / L. Y. Karpenko, P. A. Polistovskaya, A. I. Enukashvili, K. P. Ivanova // International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2020. – No. 4. – pp. 145-149. – DOI 10.17238/issn2072-2419.2020.4.145.
16. The influence of lead on changes in carbohydrate metabolism in carp / L. Y. Karpenko, P. A. Polistovskaya, K. P. Ivanova, A. B. Balykina // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. – 2019. – No. 4. – pp. 100-102. – DOI 10.17238/issn2072-6023.2019.4.100.

УДК: 57.574:636/6:658
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.106

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СОРБЦИОННО-МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ В УСЛОВИЯХ ПТИЦЕФАБРИКИ

Попова О.С.* – канд. ветеринар. наук, доц. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-0650-0837).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* alef_z@mail.ru

Ключевые слова: *оценка эффективности, кормовая добавка, сорбенты, птица*
Keywords: *efficiency assessment, feed additive, sorbents, poultry*

Поступила: 15.02.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

С целью изучения возможности применения сорбционно-метаболической кормовой добавки птице и оценки её метаболической активности проведены рандоминизированные контролируемые исследования в условиях птицефабрики, расположенной Ленинградской области. Объектом исследования были цыплят кросса «Кобб-500», из числа которых сформировали группы №1 (контроль, n=57), в которой цыплята получали только основной рацион (ОР, комбикорм), №2 (n=55) – помимо ОР задавали кормовую добавку «Бубитан ТМ» и №3 (n=60), где задавали комбиокрм и сорбционно-метаболическую кормовую добавку (СМКД). Полученные результаты были подвергнуты статистической обработки с пользованием специализированных программ для ПК. При этом определяли среднюю арифметическое значение и её стандартную ошибку, а оценку межгруппового различия оценивали по критерию Стьюдента. Помимо этого, рассчитывали абсолютный (АП) и относительный (ОП) прирост массы тела птицы. Полученные результаты показали, что сорбционно-метаболическая кормовая добавка не оказывает на организм цыплят-бройлеров негативного влияния. Обе изучаемые кормовые добавки целесообразно применять для коррекции обмена веществ. Однако, как показали результаты исследования на фоне дачи СМКД, наблюдается более высокая сохранность птицы и потенциал роста, чем при применении сопоставимого средства. Таким образом, разработанная сотрудниками кафедры ФГБОУ ВО СПбГУВМ и ООО «ЭкоГрупп» (Россия) сорбционно-метаболическая кормовая добавка не оказывает вредного влияния на организм цыплят-бройлеров и приемлема для применения в птицеводстве в качестве средства для оптимизации обмена веществ и нивелирования его нарушений, для стимуляции роста и увеличения сохранности птицы.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Бесперебойное снабжение населения продуктами питания растительного и животного происхождения является одной из приоритетных задач поддержания гарантированного уровня продовольственной безопасности страны [1,2,3]. В последние годы в птицеводстве растет интерес к различным кормовым добавкам, применяемым для улучшения эффективности кормления, состояния здоровья и продуктивности птиц. В основе достижения указанных целей лежит оптимизация баланса обмена веществ или нивелирование его нарушений. Предложено большое количество соответствующих средств, которые условно можно разделить на две группы: непосредственные регуляторы метаболических процессов и оптимизаторы условий для их физиологического течения. К первым относятся про- и пребиотики, ферменты, органические кислоты и некоторые другие [4], эффективность которых подтверждена многолетним опытом. Во вторую группу входят детоксиканты, антиоксиданты, антимикробные и др. средства, которые также широко применяются [5,6]. При этом, на фоне прогрессирования абиотических факторов и интенсификации птицеводства с соответствующим риском эндо- и экзоинтоксикации, внимание к ним возрастает, в частности к сорбентам, которые могут оказывать влияние на процессы пищеварения в полости желудочно-кишечного тракта, непосредственно изменяя состав его содержимого, а также опосредованно корректируя микробиоту и состояние слизистой оболочки [7,8]. Однако фиксация токсических веществ в кишечнике снижает риск, но не исключает их проникновения в организм в результате десорбции и ограниченной возможности сорбентов [9]. Поэтому очевидна перспектива создания кормовой добавки сочетающая способность регулирования обмена веществ, корректировки естественных механизмов обезвреживания вредных веществ в организме и их сорбции в полости желудочно-кишечного тракта. На кафедре фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ, совместно с ООО «ЭкоГрупп» (Россия), была создана кормовая добавка с указанными свойствами в состав которой входят компоненты только природного происхождения.

Цель нашего исследования – провести эксперимент по приемлемости применения сорбционно-метаболической кормовой добавки птице и оценить её метаболическую активность.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В условиях птицефабрики расположенной в Ленинградской области и специализирующаяся на выращивании цыплят мясного кросса (бройлер) Кобб-500 проведены рандоминизированные контролируемые исследования, в рамках которого методом случайной выборки по очерёдности вывода были сформированы три группы визуально здоровых цыплят кросса Кобб-500: №1 (контроль, n=57), получали только специализированный комбикорм, №2 (n=55) в период от 1 до 45 суток дополнительно в рацион вводили добавку «Бубитан», №3 (n=60) – помимо комбикорма цыплятам в возрасте 7-21 и 28-42 сутки задавали сорбционно-метаболическую кормовую добавку (СМКД). В опыте в качестве средства сравнения использовали добавку «Бутитан ТМ», выбор которой был обусловлен том, что анализ используемых кормов показал отсутствие в них токсических веществ, что исключает необходимость применения кормовых сорбентов. Поэтому проводя апробацию разработанной кормовой добавки, мы акцентировали внимание только на изучении её способности оптимизировать обмен веществ и сопоставлением её с общеизвестным обменокорректором «Бутитан ТМ» [10]. Во время опыта цыплята находились в отдельных боксах с мобильными стенками, что позволяло регулировать плотность посадки (32,0-32,5 кг/м^2). Помимо системы вентиляции и отопления, микроклимат поддерживался сменной подстилкой, состоящей из опилок (7,8-9,5 см). Птица получала в кормушках чашечных полно-

рационный комбикорм соответственно своему росту и весу, для возраста 0-14 сут. («СТАРТ»), 15-30 сут. («РОСТ») и 31 -48 сут. («Финиш»).

В течение опыта цыплята находились под постоянным наблюдением с оценкой их клинического состояния, а в возрасте 1, 7 и 45 суток помимо этого определяли их массу тела.

Полученные результаты были подвергнуты статистической обработки с пользованием специализированных программ для ПК. При этом определяли среднюю арифметическое значение и её стандартную ошибку, а оценку межгруппового различия оценивали по критерию Стьюдента. Помимо этого, рассчитывали абсолютный (АП) и относительный (ОП) прирост массы тела птицы:

АП = (МК – МН): ДР (г/сут),

ОП = (МК – МН): МН) х 100 (%), где

МН –масса тела в начале периода контроля роста,

МК – масса тела в конце периода контроля роста,

ДР – количество дней контроля роста.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Полученные результаты представлены в таблице, из данных которой видно, что применение кормовых добавок существенно увеличило сохранность цыплят и их сохранность, что указывает на их положительное влияние на состояние обмена веществ и резистентность птицы. При этом отмеченные позитивные эффекты более выражены при использовании сорбционно-метаболической добавки несмотря на то, что они применялась не постоянно. Так, в группе, где она скармливалась однородность поголовья оказалась на 8,7-4,0% выше, чем в контроле и на фоне дачи «Бутитан ТМ», а сохранность соответственно на 2,3 и 1,4%.

В течение первой недели жизни не отмечено достоверного различий по скорости роста, хотя имеет место некоторое преимущество массы тела цыплят в группе №2 (+1,7 г). Однако, в этот период не применяли СМКД и вес птицы в группе №2 не отличался от показателей контроля. На заключительном этапе наблюдения целесообразность применения кормовых добавок стала очевидной. В сравнении с контролем масса тела в возрасте 45 суток у цыплят из групп №2 и №3 была выше на 2,10 и 2,09%. Таким образом, в период от 7 до 45 суток среднесуточный прирост составил в группе №1 – 67,5 г/сут, а в №2 и №3 соответственно на 68,97 и 69,02 г/сут. При этом относительный привес оказался равен 1627,85, 1645,38 и 1665,21%.

Таблица 1 – Схема опыта и режим кормления

Показатели	Группа №		
	1 (контроль)	2	3
Рацион	Комбикорм в соответствии с возрастом	Комбикорм + «Бутитан ТМ», в возрасте 1-14 сут. по 750 г на тонну комбикорма, 15-42 сут.- 400 г/т.	Комбикорм+ СМКД в возрасте 7-21 и 28 -42 суток в дозе 0,25 г на кг массы тела.
Однородность поголовья, 45 сут, %	76,3	81,0	85,0
Сохранность, %	96,5	97,4	98,8
Масса тела (г) в возрасте: 1 сут. 7 сут. 45 суток	47,9±0,30 157,6±1,50 2723,1±55,10	48,0±0,25 159,3±1,85 2780,4±18,0*	47,8±0,30 157,5±1,70 2780,2±12,2*
Среднесуточный прирост от 1 до 45 сут, г/сут	60,80±1,501	62,11±2,310	62,10±1,250

*Примечание: * – < 0,05 в сравнении с группой №1 (контроль).*

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведённые исследования по изучению метаболической активности СМКД показали, что она не оказывает на организм цыплят - бройлеров какого-либо визуально фиксируемого негативного влияния. Сравнительный анализ эффекта применения предлагаемой кормовой добавки и «Бутитан ТМ» показал целесообразность их применения, для оптимизации обмена веществ и стимуляции роста птицы. При этом, как показали результаты исследования на фоне дачи СМКД, наблюдается более высокая сохранность птицы и потенциал роста, чем при применении сопоставимого средства. Таким образом, разработанная сотрудниками ФГБОУ ВО СПбГУВМ и ООО «ЭкоГрупп» (Россия) сорбционно - метаболическая кормовая добавка не оказывает вредного влияния на организм цыплят – бройлеров и приемлема для применения в птицеводстве в качестве средства для оптимизации обмена веществ и нивелирования его нарушений, для стимуляции роста и увеличения сохранности птицы.

ASSESSMENT OF THE EFFECTIVENESS OF SORPTION-METABOLIC FEED ADDITIVE IN POULTRY FARM CONDITIONS

Popova O.S. * – Ph.D. of Veterinary Science, Associate Professor Pharmacology and Toxicology (ORCID 0000-0002-0650-0837).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* alef_z@mail.ru

ABSTRACT

In order to study the possibility of using a sorption-metabolic feed additive for poultry and assessing its metabolic activity, randomized controlled studies were carried out in a poultry farm located in the Leningrad region. The object of the study were chickens of the Cobb-500 cross, from which groups No. 1 (control, n = 57) were formed, in which the chickens received only the main diet (OR, mixed feed), No. 2 (n = 55) - in addition to the OR, they were given feed additive "Bubitan TM" and No. 3 - (n=60), where a combination feed additive and a sorption-metabolic feed additive (SMFA) were specified. The results obtained were subjected to statistical processing using specialized PC programs. In this case, the arithmetic mean and its standard error were determined, and the intergroup difference was assessed using the student's t test. In addition, the absolute (AP) and relative (RR) increase in body weight of the bird was calculated. The results obtained showed that the sorption-metabolic feed additive does not have a negative effect on the body of broiler chickens. It is advisable to use both feed additives under study to correct metabolism. However, as the results of the study showed against the backdrop of the SMKD garden, there is a higher safety of birds and growth potential than when using a comparable product. Thus, the sorption-metabolic feed additive developed by the staff of the department of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education of St. Petersburg State University of Medicine and LLC "EcoGroup" (Russia) does not have a harmful effect on the body of broiler chickens and is acceptable for use in poultry farming as a means for optimizing metabolism and leveling its disorders, for stimulating growth and increasing the safety of poultry.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Кочиш, И. И. Эффективность цеолитсодержащих добавок в бройлерном птицеводстве / И. И. Кочиш, Е. А. Капитонова, В. Н. Никулин // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2020. – № 3(83). – С. 329-334. – DOI 10.37670/2073-0853-2020-83-3-329-335. – EDN QATIXG.

2.Łukasz J., Stępień-Pyśniak D., Grądzki Z., Kapica M., Gacek A.. The effect of feed supplementation with Zakarpacki zeolite (clinoptilolite) on percentages of T and B lymphocytes and cytokine concentrations in poultry,-Poultry Science,-V.96, -I. 7,2017, P.2091-2097,

3.Бобылева, Г.А. Тенденции развития отрасли птицеводства / Г.А. Бобылева // Птица и птицепродукты.-2014.-№4. - С.14 -24.

4.Татаренко И. Ю. и Бабухадия К. Р. (2022). Использование кормовой добавки из аспарагинатов йода, кобальта и селена в комплексе с пробиотиком «витацелл» в кормлении цыплят. Дальневосточный аграрный вестник, (1 (61)), 62-71, Р. А. Тузиков, С. В. Лебедев, М. С. Аринжанова и Е. В. Шейда (2023). Влияние биоминерального комплекса на рост, продуктивные качества цыплят-бройлеров. Животноводство и кормопроизводство, 106 (3), 138-147

5.Suchý P. et al. The effect of a clinoptilolite -based feed supplement on the performance of broiler chickens //Czech J. Anim. Sci. – 2006. – Т. 51. – С. 168-173.

6. Lamprecht M. et al. Effects of zeolite supplementation on parameters of intestinal barrier integrity, inflammation, redoxbiology and performance in aerobically trained subjects //Journal of the International Society of Sports Nutrition. – 2015. – Т. 12. – С. 1-11

7.Остапчук П. С., Зубоченко Д. В., Куевда Т. А. "Роль антиоксидантов и использование их в животноводстве и птицеводстве (обзор)" Аграрная наука Евро-Северо-Востока, vol. 20, № 2, 2019, PP 103-117.

8.Онищук Ф.Д., Семененко М.П., Онищук А.А., Лагунина Н.А, Катарская Т.В., Иванова А.Н. Экспериментальные исследования по оценке безвредности кормовой добавит «Лозекорм» и ее производственные испытания в условиях птицеводческих хозяйств. Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2023. – № 3 (59). – С. 72-76. – DOI 10.24412/2074-5036 -2023-3-72-76. – EDN GCPCXP.

9.Лаптев Г. Руководство по нейтрализации токсинов /Г. Лаптев, Н. Новикова, Е. Йылдырым и др. // Ценовик.- 2022,1.- С.52-56

10.Просекова Е. А., Панов В. П., Серякова А. А., Комарчев А.С., Воронин К. О. (2020). Рост и морфофизиологическое состояние органов пищеварения бройлеров при использовании кормовой добавки "ФАРМАТАН" (БУТИТАН). Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии, (6), 34-48.

REFERENCES

1. Kocish, I. I. Efficiency of zeolite-containing additives in broiler poultry farming / I. I. Kocish, E. A. Kapitonova, V. N. Nikulin // News of the Orenburg State Agrarian University. – 2020. – No. 3(83). – pp. 329-334. – DOI 10.37670/2073-0853-2020-83-3-329-335. – EDN QATIXG.

2. Łukasz J., Stępień-Pyśniak D., Grądzki Z., Kapica M., Gacek A.. The effect of feed supplementation with Zakarpacki zeolite (clinoptilolite) on percentages of T and B lymphocytes and cytokine concentrations in poultry, -Poultry Science, -V.96, -I. 7,2017, P.2091-2097,

3. Bobyleva, G.A. Trends in the development of the poultry industry / G.A. Bobyleva // Poultry and poultry products.- 2014.-No. 4. - P.14-24.

4. Tatarenko I. Yu. and Babukhadia K. R. (2022). The use of a feed additive of iodine, cobalt and selenium aspartates in combination with the probiotic “Vitacell” in feeding chickens. Far Eastern Agrarian Bulletin, (1 (61)), 62-71, R. A. Tuzikov, S. V. Lebedev, M. S. Arinzhanova and E. V. Sheyda (2023). The influence of the biomineral complex on the growth and productive qualities of broiler chickens. Animal Husbandry and Forage Production, 106 (3), 138-147

5. Suchý P. et al. The effect of a clinoptilolite-based feed supplement on the performance of broiler chickens // Czech J. Anim. Sci. – 2006. – T. 51. – P. 168-173.

6. Lamprecht M. et al. Effects of zeolite supplementation on parameters of intestinal barrier integrity, inflammation, redoxbiology and performance in aerobically trained subjects // Journal of the International Society of Sports Nutrition. – 2015. – T. 12. – P. 1-11

7. Ostapchuk P. S., Zubochenko D. V., Kuevda T. A. “The role of antioxidants and their use in livestock and poultry farming (review)” Agricultural Science of the Euro-North-East, vol. 20, No. 2, 2019, RR 103-117.

8. Onishchuk F.D., Semenenko M.P., Onishchuk A.A., Lagunina N.A., Katarskaya T.V., Ivanova A.N. Experimental studies to assess the safety of feed will be added by “Lozekorm” and its production tests in poul-

try farms. Current issues in veterinary biology. – 2023. – No. 3(59). – P. 72-76. – DOI 10.24412/2074-5036-2023-3-72-76. – EDN GCPCXP.

9. Laptev G. Guide to neutralizing toxins /G. Laptev, N. Novikova, E. Yildirym and others // Tsenovik.- 2022, 1.- P.52-56

10. Prosekova E. A., Panov V. P., Seryakova A. A., Komarchev A. S., Voronin K. O. (2020). Growth and morphophysiological state of the digestive organs of broilers using the feed additive "FARMATAN" (BUTITANE). News of the Timiryazev Agricultural Academy, (6), 34-48.

УДК: 615.31:577.118:612.6:639.3.034
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.112

ВЛИЯНИЕ ОРГАНОМИНАРАЛЬНОГО ХЕЛАТНОГО КОМПЛЕКСА НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ САМОК И ВЫЖИВАЕМОСТЬ ИКРЫ DANIO *RERIO*

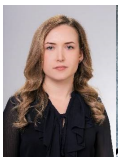
Полистовская П.А. – канд. биол. наук., доц. кафедры биохимии и физиологии; **Карпенко Л.Ю.** – д-р биол. наук, проф., зав. каф. биохимии и физиологии; **Махнин И.А.**[*] – асп., асс. кафедры биохимии и физиологии; **Ажикина О.Ю.** – асп.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
*ilya.makh@mail.ru

Ключевые слова: *хелатные соединения, Danio rerio, икра, репродукция, аквакультура, токсикология*
Keywords: *chelated compounds, Danio rerio, caviar, reproduction, aquaculture, toxicology*

Благодарность: *Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда 23-76-01042*, https://rscf.ru/project/23-76-01042/

Поступила: 15.02.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024



РЕФЕРАТ

Danio rerio является популярным модельным организмом, применяемым в различных областях научных исследований, включая аквакультуру. Использование *Danio rerio* токсикологических исследованиях препаратов, перспективных для применения в аквакультуре, позволяет снизить затраты поголовья промысловых рыб на нужды экспериментов. Целью исследования была оценка влияния органоминерального хелатного комплекса на репродуктивную функцию самок и выживаемость икры *Danio rerio*. Исследовали органоминеральный хелатный комплекса (ООО "ЮПИТЕР", Россия). Действующая основа биологически активной добавки (далее БАД): комплекс этилендиаминдиянтарной кислоты и лизина с микроэлементами (Fe, Mn, Cu, Zn, Co, Se, I). Рыбам опытных групп в течение 30-ти дней задавали добавку, данные сравнивали с контролем. Препарат задавали вместе с кормом один раз в день, в 3-х различных концентрациях (0,25 г/л, 0,125 г/л, 0,0625 г/л). Оценивали массу самок в начале и конце эксперимента, общее количество икринок (от каждой самки за нерест), количество икринок в 1 г, выживаемость икринок, диаметр икринок и длину личинок 5 dfp (пять дней после оплодотворения). Для получения икры родительские пары ссаживали в нерестовые отсадники и оставляли на 12 часов. Эффективность органоминерального хелатного комплекса наблюдалась при использовании его в дозировке 0,25 г/л. Применение комплекса в течение 30 дней приводило к увеличению массы самок и массы икринок, а также количества икринок за нерест. Важно отметить и то, что применение препарата не оказало достоверного влияния на выживаемость икры, диаметр икринки и длину личинки. Усиление репродуктивной функции и увеличение размеров самок *Danio rerio* можно объяснить влиянием компонентов органоминерального хелатного комплекса на протекание биохимических реакций в организме рыб.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В условиях интенсивного развития аквакультуры, необходимо совершенствовать технологии содержания и репродукции, что позволит повышать эффективность рыбоводных предприятий [1]. Активное развитие аквакультуры РФ сдерживается рядом причин, важнейшая из которых - отсутствие конкурентоспособных отечественных кормов [2]. Отсутствие сбалансированного кормления приводит к снижению эффективности и рентабельности рыбохозяйственных предприятий. Одним из способов повышения эффективности кормления в аквакультуре является внесение кормовых добавок [3,4]. По заявлению ряда авторов [5], на сегодняшний день, кормовые добавки, используемые в аквакультуре, обычно не проверяются на биобезопасность, поскольку считается, что их свойства можно определить по химическому составу или путем сравнения с аналогичными веществами. По этим причинам многие исследования эффективности кормовых добавок ограничиваются масса-размерными признаками. Эта формальная оценка не может обеспечить гарантированную безопасность и понимание механизмов действия препарата, в связи с чем необходимо проводить всесторонние исследование кормовых добавок [5]. Danio rerio является популярным модельным организмом, применяемым в различных областях научных исследований, включая аквакультуру. Преимуществами Danio rerio как экспериментальной модели являются небольшие размеры, высокий коэффициент рождаемости, недорогое содержание и быстрое развитие [6]. Таким образом в токсикологических исследованиях препаратов, перспективных для применения в аквакультуре, Danio rerio позволяют снизить затраты в виде поголовья промысловых рыб на нужды экспериментов. Цель работы: оценить влияние органоминерального хелатного комплекса на репродуктивную функцию самок и выживаемость икры Danio rerio.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводилось на кафедре биохимии и физиологии ФГБОУ ВО “Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины”. Объектом исследования стали самки (n=80) Danio rerio (возраст 7 месяцев) дикого типа. Животные содержались в аквариумах, при интенсивность света 300 –330 лк; фотопериод: 14 часов свет/10 часов темнота. Температура воды поддерживалась на уровне 28 ± 0,5 °C. Кормление взрослых особей осуществляли 3 раза в день (сухие гранулы корма Tetra Min Granules - ежедневно; 1 раз в три дня креветки (Artemia sp.).

Исследовали органоминеральный хелатный комплекса (ООО "ЮПИТЕР", Россия). Действующая основа биологически активной добавки (далее БАД): комплекс этилендиаминдиянтарной кислоты и лизина с микроэлементами (Fe, Mn, Cu, Zn, Co, Se, I). Микроэлементный состав хелатного комплекса представлен в таблице 1.

Хелатный комплекс (многокомпонентная субстанция) представлял раствор темно-коричневого цвета, без запаха, хорошо растворимый в воде и нерастворимый в органических растворителях, pH раствора БАД - 6,3

Основной акцент исследования был сосредоточен на изучение влияния органоминерального хелатного комплекса на репродуктивные показатели и выживаемость икры. Рыбам опытных групп в течение 30-ти дней задавали добавку, данные сравнивали с контролем. Препарат задавали вместе с кормом один раз в день, в 3-х различных концентрациях (0,25 г/л, 0,125 г/л, 0,0625 г/л).

Оценивали массу самок в начале и конце эксперимента, общее количество икринок (от каждой самки за нерест), количество икринок в 1 г, выживаемость икринок, диаметр икринок и длину личинок 5 dfp (пять дней после оплодотворения) [7]. Для получения икры родительские пары ссаживали в нерестовые отсадники и оставляли на 12 часов [8]. Измерения личинок и рыб проводили, обездвиживая раствором МС-222 (50 мг/л - для

личинок; 75 мг/л - для взрослых рыб) [9].

Определение массы рыб и массы икринок проводили с помощью аналитических весов Госметр ВЛА-120М, Россия

Морфометрические исследования (диаметр икры, длину личинки) проводили с использованием программы Screen-Meter 1.0. В качестве эталона-сравнения использовали морфометрическую линейку (MS-1-4 Micrometers Stage), при 1DIV= 0,1 мм.

Таблица 1 – Микроэлементный состав исследуемого органоминерального хелатного комплекса

Микроэлемент	Содержание г/л
Железо	33,1
Марганец	6,7
Медь	3,4
Цинк	18,6
Кобальт	0,76
Селен	0,43
Йод	1,01
Общее количество (сумма) элементов	64

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Проведено исследование влияния органоминерального хелатного комплекса на репродуктивную функцию и выживаемость икры Danio rerio. Эксперимент проводили в течение 30 дней. Результаты применения органоминерального хелатного комплекса представлены в таблице 2.

Определена масса самок в начале эксперимента в контрольной группе - 0,48±0,02 г и опытных группах 0,47±0,02 г – для концентрации 0,250 г/л, 0,47±0,03 г – для концентрации 0,125 г/л, 0,46±0,02 – для концентрации 0,0625 г/л. Измерения массы самок в конце эксперимента показали, что статистически достоверное различие (масса 0,56±0,01 г) наблюдается при использование органоминерального хелатного комплекса в дозировке 0,250 г/л.

Кроме того, анализ количества икринок в одном грамме показал, что применение органоминерального хелатного комплекса в дозировке 0,250 г/л приводит к достоверному снижению показателя (942,0±7,56 шт. в 1 г) в сравнении с контролем (979,0±11,88 шт. в 1 г). Также использование данной добавки в концентрации 0,250 г/л привело к увеличению количества икринок, выбрасываемых при нересте (191±5,04 шт.) в сравнении с контролем (165±6,17 шт.). Полученные данные свидетельствуют об увеличении массы икринки. Важно отметить и то, что применение органоминерального хелатного комплекса не оказало достоверного влияния на выживаемость икры, диаметр икринки и длину личинки.

Усиление репродуктивной функции и увеличение размеров самок *Danio rerio* можно объяснить влиянием компонентов органоминерального хелатного комплекса на протекание биохимических реакций в организме рыб. Известно, что селен (Se) необходим для функционирования иммунной, репродуктивной, сердечно-сосудистой, нервной систем [10]. Снижение поступления селена может приводить к развитию окислительного стресса, и как следствие к повреждению поджелудочной железы, дегенерации мышечных волокон, некрозам печени и почек, снижению темпов роста [10-12]. В ранее проведенных исследованиях, самки красной тиляпии, которые получали вместе с кормом селен имели более высокий вес внутренних органов (в т.ч. гонад)[13]. Авторы также отметили, что икра рыб получавших селен,имела больший диаметр, вес и объем [13].

Цинк (Zn) является кофактором многих металлопротеинов, влияет на рост и нормальное развитие организма [14]. Уве-

личение массы самок может быть связано с улучшением усвояемости белков и углеводов, обусловленным повышением активности карбоксипептидаз (ЕС 3.4.17.1; 3.4.17.2)[15-16]. Марганец (Mn) также входит в состав многих металлопротеинов, например супероксиддисмутазы (ЕС 1.15.1.1) Дефицит супероксиддисмутазы приводит к задержке роста [15]. Марганец важен для синтеза половых гормонов, поскольку он является кофактором для некоторых ферментов (мевалонаткиназа ЕС 2.7.1.36 и фарнезилпирофосфатсинтаза ЕС 2.5.1.10), участвующих в синтезе холестерина [17]. Возможной причиной увеличения массы икринок стало повышение активности эстрадиола-17b, который участвует в стимуляции синтеза и секреции печенью предшественника желтка — вителлогенина [18].

Таким образом, коррекция минеральной компоненты рационов позволяет, увеличить продуктивные в т.ч. репродуктивные качества рыб. Наибольшая эффективность органоминерального хелатного комплекса наблюдалась при использовании его в дозировке 0,25 г/л. Следует отметить, что увеличение размерных характеристик регистрировалось другими авторами при интенсификации кормления, при этом они указывали на снижение выживаемости эмбрионов [19]. В нашем исследовании, применение органоминерального хелатного комплекса не приводило к развитию негативных реакций.

Таблица 2 – Влияние органоминерального хелатного комплекса на репродуктивную функцию и выживаемость икры *Danio rerio*.

ПАРАМЕТРЫ	ИССЛЕДУЕМЫЕ ГРУППЫ			
	КОНТРОЛЬ n=20	**0,250 г/л n=20**	**0,125 г/л n=20**	**0,0625 г/л n=20**
Масса самок в начале эксперимента, г	0,48±0,02	0,47±0,02	0,47±0,03	0,46±0,02
Масса самок в конце эксперимента, г	0,49±0,03	0,56±0,01*	0,53±0,02	0,50±0,02
Количество икринок в 1 г, шт	979,0±11,88	942,0±7,56*	961,2±8,32	994,0±12,22
Всего икринок, шт	165± 6,17	191±5,04*	174±3,7	168±4,2
Выживаемость икры, %	95	95	96	93
Диаметр икринки	1,38± 0,01	1,39±0,04	1,36±0,02	1,40±0,02
Длина личинки	1,71±0,03	1,70±0,02	1,68±0,01	1,71±0,01

*Примечание: * Различие по данному показателю статистически достоверно между контрольной и опытной группой (p ≤ 0,05 при t критическом 2,024),*

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Наблюдение за изменением массаразмерных и репродуктивных признаков является важной частью селекционно-племенной работы, поскольку ухудшение показателей может указывать на биотехнические ошибки при выращивании рыб [20].

В индустриальной аквакультуре, необходимо применение сбалансированных рационов. Для повышения эффективности кормов используют различные биологически активные добавки [21].

Эффективность органоминерального хелатного комплекса наблюдалась при использовании его в дозировке 0,25 г/л. Применение комплекса в течение 30 дней приводило к увеличению массы самок и массы икринок, а также количества икринок за нерест. Важно отметить и то, что применение препарата не оказало достоверного влияния на выживаемость икры, диаметр икринки и длину личинки.

THE EFFECT OF AN ORGANOMINERAL CHELATE COMPLEX ON THE REPRODUCTIVE FUNCTION OF FEMALES AND THE SURVIVAL OF EGGS DANIO RERIO

Polistovskaya P.A. – PhD., associate Professor of the Department of Biochemistry and Physiology; **Karpenko L.Yu.** – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department. Biochemistry and physiology; **Makhnin I.A.*** – post-graduate student of the 1st year of study, assistant of the Department of Biochemistry and Physiology; **Azhikina O.Yu.** – graduate student of the 2nd year of study.

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*ilya.makh@mail.ru

Financing: *The study was supported by a grant from the Russian Science Foundation 23-76-01042, https://rscf.ru/project/23-76-01042/*

ABSTRACT

Danio rerio is a popular model organism used in various fields of scientific research, including aquaculture. The use of Danio rerio in toxicological studies of drugs promising for use in aquaculture allows reducing the cost of livestock of commercial fish for the needs of experiments. The aim of the study was to evaluate the effect of an organomineral chelate complex on the reproductive function of females and the survival of Danio rerio eggs. An organomineral chelate complex was studied (JUPITER, Russia). The active basis of a biologically active additive (hereinafter dietary supplements): a complex of ethylenediaminediantaric acid and lysine with trace elements (Fe, Mn, Cu, Zn, Co, Se, I). The fish of the experimental groups were given an additive for 30 days, the data were compared with the control. The drug was given together with the feed once a day, in 3 different concentrations (0.25 g / l, 0.125 g / l, 0.0625 g / l). The weight of females at the beginning and end of the experiment, the total number of eggs (from each female for spawning), the number of eggs per 1 g, the survival rate of eggs, the diameter of eggs and the length of larvae 5 dfp (five days after fertilization) were estimated. To obtain caviar, the parent pairs were planted in spawning jigs and left for 12 hours. The effectiveness of the organomineral chelate complex was observed when using it at a dosage of 0.25 g/l. The use of the complex for 30 days led to an increase in the weight of females and the weight of eggs, as well as the number of eggs per spawning. It is also important to note that the use of the drug did not have a significant effect on the survival of the eggs, the diameter of the eggs and the length of the larva. The enhancement of reproductive function and the increase in the size of Danio rerio females can be explained by the influence of the components of the organomineral chelate complex on the course of biochemical reactions in the body of fish.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1.Эльнакиб, М. А. Эльшахат, А. Сравнительная оценка показателей репродуктивной функции самок веслоноса (Polyodon spathula – Walbaum, 1792), неоднократно созревших в маточных стадах-2022-№ 1-165 с.

2.Магзанова, Д. К. Экспериментальные данные поиска сырья для кормопроизводства растительноядных рыб / Д. К. Магзанова // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2011. – № 10-1. – С. 146. – EDN OFVCXJ.

3.Козлов В.И. и др. Аквакультура : учебник / В.И. Козлов, А.Л. Никифоров-Никишин, А.Л. Бородин. - М. : МГУТУ - 2004. - С. 433

4.Анализ показателей лизоцимной активности сыворотки крови радужной форели (Oncorhynchus mykiss) при применении препарата "Smartbiotic" / Л. Ю. Карпенко, А. А. Бахта, К. П. Иванова [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2021. – № 4. – С. 140 -142. – DOI 10.52419/issn2072-6023.2021.4.140. – EDN GOYUHD.

5.Кочетков Н. И., Смородинская С., Никифоров-Никишин Д. Л., Климов В., Головачева Н., Никифоров-Никишин Д. Л., Грозеску Ю. Оценка возможной генотоксичности трех кормовых добавок, реко-

мендуемых для аквакультуры, методом микроядерного теста на эритроцитах Danio rerio // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. 2022. №. 3. С. 48-59. DOI: https://doi.org/10.24143/2073-5529-2022-3-48-59 (дата обращения: 18.03.2024).

6.Fishman MC. Genomics. Zebrafish--the canonical vertebrate. Science. 2001 Nov 9;294(5545):1290-1. doi: 10.1126/science.1066652. PMID: 11701913.R. Creton

7.Определение плодовитости и стадий зрелости рыб : (Учеб. пособие) / А. П. Петлина; Под ред. В. В. Кафановой. - Томск : Изд-во Том. ун-та, 1987. - 106 с.

8.Canadian Council on Animal Care. (2020, December 10). CCAC publishes new guidelines on zebrafish. Retrieved from https://ccac.ca/en/about/news-and-media/2020/12/10/ccac-publishes-new-guidelines-on-zebrafish/

9.McGill University. (n.d.). (2021). Fish and aquatic amphibian anesthesia.//SOP 118.03- Fish and Aquatic Amphibian Anesthesia Retrieved from https://www.mcgill.ca/research/files/research/118_fish_and_aquatic_amphibian_anesthesia.pdf

10.Wang KY, Peng CZ, Huang JL, Huang YD, Jin MC, Geng Y. The pathology of selenium deficiency in Cyprinus carpio L. J Fish Dis. 2013 Jul;36(7):609-15. doi: 10.1111/jfd.12030. Epub 2013 Jan 16. PMID: 23320605.

11. Bell, J.G., Pirie,B.J.S., Adron, J.W., Cowey, C.B., 1986. Some effects of selenium deficiency on glutathione peroxidase (EC I. 11.1.9) activity and tissue pathology in rainbow trout (Salmo gairdnerz). Br. J. Nutr. 55, 305–311.

12.Köhrle, J., Brigelius-Flohé, R., Böck, A., Gärtner, R., Meyer, O., Flohé, L., 2000. Selenium in biology: facts and medical perspectives. Biol. Chem. 381, 849–864.

13. Naiel M. et all, 2023. The Assessment of Different Dietary Selenium Resources on Reproductive Performance, Spawning Indicators, and Larval Production of Red Tilapia (Oreochromis mossambicus × O. niloticus) Broodfish. Aquaculture Nutrition. 2023. 1-11. 10.1155/2023/5596619.

14.Влияние цинка на гематологические показатели карпа / П. А. Полистовская, Л. Ю. Карпенко, А. И. Енукашвили [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2019. – Т. 240, № 4. – С. 151-154. – DOI 10.31588/2413-4201-1883-240-4-151-154. – EDN TPPVSW.

15.Nguyen, V.T., Satoh, S., Haga, Y., Fushimi, H., Kotani, T., 2008. Effect of zinc and manganese supplementation in Artemia on growth and vertebral deformity in red sea bream (Pagrus major) larvae. Aquaculture 285, 184–192.

16. Watanabe, T., Kiron, V., Satoh, S., 1997. Trace minerals in fish nutrition. Aquaculture 151, 185–207.

17.Goering, P., 2003. The Road to Elucidating the Mechanism of Manganese-Bilirubin-Induced Cholestasis. Toxicological sciences: an official journal of the Society of Toxicology. 73. 216-9. 10.1093/toxsci/kfg112.

18.Sun B., Pankhurst N.W. 2003. Correlation between oocyte development and plasma levels of steroids and vitellogenin in greenback flounder Rhombosolea tapirine // Abstr. 7th Intern. Symp. on Reproductive Physiology of Fish. Mie. Japan. P. 95.

19. Adatto I, Lawrence C, Krug L, Zon LI (2022) The effects of intensive feeding on reproductive performance in laboratory zebrafish (Danio rerio). PLoS ONE 17(11): e0278302. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0278302

20. Беренев Ю.Е. Сравнительная характеристика самок ладожской палии (Salvelinus Alpinus L.), выращиваемой в условиях рыбоводного хозяйства Ленинградской области, по размерно-весовым и репродуктивным признакам. Генетика и разведение животных. 2023;(3):67-73. https://doi.org/10.31043/2410-2733-2023-3-67-73

21. Зуева М.С. Современный опыт включения биологически активных кормовых добавок в рацион рыб // Животноводство и кормопроизводство. 2022. №4. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/

sovremennyy-opyt-vklyucheniya-biologicheski-aktivnyh-kormovyh-dobavok-v-ratsion-ryb (дата обращения: 17.03.2024).

REFERENCES

1. Elnakib, M. A. Elshahat, A. Comparative assessment of the reproductive function of female oarfish (Polyodon spathula – Walbaum, 1792), repeatedly matured in breeding herds-2022-No. 1-165 c.
2. Magzanova, D. K. Experimental data on the search for raw materials for the forage production of herbivorous fish / D. K. Magzanova // International Journal of Applied and Fundamental Research. – 2011. – No. 10-1. – p. 146. – EDN OFVCXJ.
3. Kozlov V.I. et al. Aquaculture : textbook / V.I. Kozlov, A.L. Nikiforov-Nikishin, A.L. Borodin. - M. : MGUTU - 2004. - p. 433
4. Analysis of indicators of lysozyme activity of blood serum of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) when using the drug "Smartbiotic" / L. Y. Karpenko, A. A. Bakhta, K. P. Ivanova [et al.] // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. - 2021. – No. 4. – pp. 140-142. – DOI 10.52419/issn2072-6023.2021.4.140. – EDN GOYUHD.
5. Kochetkov N. I., Smorodinskaya S., Nikiforov-Nikishin D. L., Klimov V., Golovacheva N., Nikiforov-Nikishin D. L., Grozescu Yu. Assessment of the possible genotoxicity of three feed additives recommended for aquaculture by the method of micronuclear test on erythrocytes Danio rerio // Bulletin of the Astrakhan State Technical University. Series: Fisheries. 2022. No. 3. pp. 48-59. DOI: https://doi.org/10.24143/2073-5529-2022-3-48-59 (date of application: 03/18/2024).
6.Fishman MC. Genomics. Zebrafish--the canonical vertebrate. Science. 2001 Nov 9;294(5545):1290-1. doi: 10.1126/science.1066652. PMID: 11701913.R. Creton
7. Determination of fecundity and stages of maturity of fish : (Textbook) / A. P. Petlina; Edited by V. V. Kafanova. Tomsk : Publishing House Vol. unita, 1987. - 106 p
8. Canadian Council on Animal Care. (2020, December 10). CCAC publishes new guidelines on zebrafish. Retrieved from https://ccac.ca/en/about/news-and-media/2020/12/10/ccac-publishes-new-guidelines-on-zebrafish/
9.McGill University. (n.d.). (2021). Fish and aquatic amphibian anesthesia.//SOP 118.03- Fish and Aquatic Amphibian Anesthesia Retrieved from https://www.mcgill.ca/research/files/recearch/118_fish_and_aquatic_amphibian_anesthesia.pdf
10.Wang KY, Peng CZ, Huang JL, Huang YD, Jin MC, Geng Y. The pathology of selenium deficiency in Cyprinus carpio L. J Fish Dis. 2013 Jul;36(7):609-15. doi: 10.1111/jfd.12030. Epub 2013 Jan 16. PMID: 23320605.
11. Bell, J.G., Pirie,B.J.S., Adron, J.W., Cowey, C.B., 1986. Some effects of selenium deficiency on glutathione peroxidase (EC I. 11.1.9) activity and tissue pathology in rainbow trout (Salmo gairdnerz). Br. J. Nutr. 55, 305–311.
12.Köhrle, J., Brigelius-Flohé, R., Böck, A., Gärtner, R., Meyer, O., Flohé, L., 2000. Selenium in biology: facts and medical perspectives. Biol. Chem. 381, 849–864.
13. Naiel M. et all, 2023. The Assessment of Different Dietary Selenium Resources on Reproductive Performance, Spawning Indicators, and Larval Production of Red Tilapia (Oreochromis mossambicus × O. niloticus) Broodfish. Aquaculture Nutrition. 2023. 1-11. 10.1155/2023/5596619.
14. The effect of zinc on hematological parameters of carp / P. A. Polistovskaya, L. Y. Karpenko, A. I. Enukashvili [et al.] // Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. - 2019. – Vol. 240, No. 4. – pp. 151-154. – DOI 10.31588/2413-4201-1883-240-4-151-154. – EDN TPPVSW.
15.Nguyen, V.T., Satoh, S., Haga, Y., Fushimi, H., Kotani, T., 2008. Effect of zinc and manganese supplementation in Artemia on growth and vertebral deformity in red sea bream (Pagrus major) larvae. Aquaculture 285, 184–192.
16. Watanabe, T., Kiron, V., Satoh, S., 1997. Trace minerals in fish nutrition. Aquaculture

151, 185–207.
17.Goering, P., 2003. The Road to Elucidating the Mechanism of Manganese-Bilirubin-Induced Cholestasis. Toxicological sciences: an official journal of the Society of Toxicology. 73. 216-9. 10.1093/toxsci/kfg112.
18.Sun B., Pankhurst N.W. 2003. Correlation between oocyte development and plasma levels of steroids and vitellogenin in greenback flounder Rhombosolea tapirine // Abstr. 7th Intern. Symp. on Reproductive Physiology of Fish. Mie. Japan. P. 95.
19. Adatto I, Lawrence C, Krug L, Zon LI (2022) The effects of intensive feeding on reproductive performance in laboratory zebrafish (Danio rerio). PLoS ONE 17(11): e0278302. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0278302
20. Berenev Yu.E. Comparative characteristics of female Ladoga palia (Salvelinus Alpinus L.), grown in the conditions of fish farming in the Leningrad region, by size, weight and reproductive characteristics. Genetics and animal breeding. 2023;(3):67-73. https://doi.org/10.31043/2410-2733-2023-3-67-73
21. Zueva M.S. Modern experience of including biologically active feed additives in the diet of fish // Animal husbandry and feed production. 2022. No.4. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/sovremennyy-opyt-vklyucheniya-biologicheski-aktivnyh-kormovyh-dobavok-v-ratsion-ryb (date of application: 03/17/2024).

УДК: 639.3.043.14
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.120

ПРОИЗВОДСТВЕННЫЕ ИСПЫТАНИЯ СОРБЦИОННОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ ДЛЯ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ

Попова О.С.[1]* – канд. ветеринар. наук, доц. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-0650-0837); **Алехин Ю.Н.**[2] – д-р ветеринар. наук, гл. науч. сотр. отдела экспериментальной терапии (ORCID 0000-0003-0666-7722).

[1] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
[2] ФГБНУ «ВНИВИПФиТ»

* alef_z@mail.ru

Ключевые слова: *радужная форель, сорбенты, кормовая добавка, кормовые отравления*
Keywords: *rainbow trout, sorbents, feed additive, feed poisoning*

Поступила: 15.01.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

На фоне интенсификации технологий аквакультуры возрастает выраженность факторов сдерживания, из числа наиболее актуальных в данном вопрсе следует отметить качество кормов, низкий уровень которых формирует риски кормовых отравлений, метаболических нарушений и инициации развития заболеваний. В условиях рыбоводческого хозяйств проведены исследования по изучению безопасности и эффективности применения рыбам сорбционно - метаболической кормовой добавки, разработанной сотрудниками ФГБОУ ВО СПбГУВ и ООО «ЭкоГрупп» (Россия). Объектом исследования была радужная форель, которая в период выращивания в течении 60 дней получала комбикорм с указной добавкой. Статистическая обработка полученных результатов, проводимая с использованием программ «Statistica 8.0» включала в себя расчёт среднюю арифметическую и её стандартной ошибки (M±m), а межгрупповое различие (p) оценивали по критерию Стьюдента. Результаты исследования показали, что разработанная кормовая добавка не оказывает негативного влияния на организм рыб, а её применение исключает возникновение нарушения обмена веществ и развитие патологии печени и почек, риск которых повышается при интенсификации технологии аквакультуры. На фоне дачи новой кормовой добавки не только увеличивается масса и размеры тела рыбы, но повышается её ростовой потенциал в периоды дальнейшего выращивания. Таким образом, разработанная сорбционно-метаболическая кормовая добавка безвредная для рыб, оказывает положительное влияние на их рост и развитие, снижает риски метаболических нарушений и развития патологий. Все это даёт основание для применения данной кормовой добавки в аквакультуре.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Аквакультура является одной из наиболее рентабельных и прогрессивно развивающихся подотраслей животноводства [1]. Из большого числа пресноводных рыб радужная форель является одним из наиболее коммерчески культивируемых видов, объём производства которой во всем мире превышает 916 000 тонн в год [2]. На фоне интенсификации технологий аквакультуры возрастает выраженность факторов сдерживания, из числа наиболее актуальных в данном вопрсе следует отметить качество кормов [3,4], низкий уровень которых формирует риски кормовых отравлений, метаболических нарушений и инициации развития заболеваний. При этом очевидным является применение энтеросорбентов [5]. Однако, фиксация токсинов в кишечнике не гарантирует нейтрализацию всех токсинов, количество которых также пополняется в результате частичной десорбции и все это обуславливает их всасывание в кровь. Помимо этого, энтеросорбция не обеспечивает нужный уровень детоксикации при эндогенной интоксикации.

Так, при разработке нового средства нужно учитывать, что безопасность кормов является одним из основных факторов, влияющих на продуктивность животных и экономическую целесообразность предприятия аквакультуры. Например, наличие химически разнообразных микотоксинов в продуктах питания человека и кормах для животных, с последующими вопросами безопасности и экономическими потерями в сельском хозяйстве, в частности в рыбоводстве, в настоящее время становится проблемой во всем мире. Многие из этих токсинов часто обнаруживаются в кормах в токсикологически значимых концентрациях [4,6]. Поэтому очевидным является создание средств совмещающих энтеросорбцию и стимуляцию естественных механизмов детоксикации за счёт оптимизации работы печени и стабилизации функций мембран клеток. Именно такой спектр фармакологического действия заявлен у сорбционно-метаболической кормовой добавки разработанной сотрудниками ФГБОУ ВО СПбГУВМ и ООО «ЭкоГрупп» (Россия). Поэтому целью наших исследований было изучение её безвредности для рыб и влияния на их организм.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В период с 20 марта- 20 мая 2023 г. в рыбоводческом хозяйстве, расположенном в Ленинградской области, специализирующимся на выращивании радужной форели (Oncorhynchus mykiss) с использованием полносистемной технологии с двухлетним оборотом, были проведены исследования по изучению влияния сорбционно-метаболической кормовой добавки (СМКД) на организм рыб. Объектом исследования были особи форели на 48-50 день выращивания. До этого они прошли этапы инкубации икры и выращивания личинок и подращивания мальков до средней массы 53,0±1,13 г. Выращивание товарной рыбы осуществляли в лотках (2,0 х 0,75 х 1,0 м) в которые постоянно поступала вода из скважины или из промежуточного накопителя. Программа акваконтроля автоматически настроена на поддержания температуры воды в диапазоне от 14,5 до 18,0°С, и сама выбирала источник её забора. Помимо этого, постоянно контролировали содержание кислорода в воде и не допускали его снижения менее 9,5 мг/л. В двух латках сформировали плотность посадки 65-67 кг/м^3 рыбой с аналогичным возрастом и массой тела, которая получала специализированный гранулированный комбикорм, изготовленный хозяйстве, в состав которого входили рыбная мука, сухое обезжиренное молоко, костная мука, кормовые дрожжи, витаминно-минеральный премикс, экструдированный ячмень и кукуруза. Комбикорм задавали 5-7 раз в сутки в общем количестве 10% от массы рыбы, обеспечивали поступление в их организм необходимое количество питательных и биологически активных веществ [7]. В лотке №2 при аналогичном режиме кормления рыба получала комбикорм, в состав которого дополнительно ввели сорбцион-

но-метаболическую добавку, состоящую из нативных (природных) компонентов, основным действием которых является адсорбция токсические вещества в полости желудочно-кишечного тракта и активация естественных механизмов детоксикации организма, в том числе антиоксидантное и гепатопротекторное влияние. Ранее проведённые нами доклинические исследования показали, что данная кормовая добавка относится к IV классу опасности (малоопасные) согласно ГОСТ 12.1.007-76 «Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности». Рассчитанная на основании поисковых исследований профилактическая доза СМКД составляет 0,15 г/кг массы тела. При этом суточное потребление корма в лотке №1 оказалось равно 9,2 г/100 г массы тела рыбы, поэтому для обеспечения указанной дозы в составе комбикорма добавка должна составлять 0,17%. Опыт длился два месяца, в течении которых контролировали поедаемость корма и случаи гибели рыбы, но в 1 и 60 день у 10 особей из каждого лотка отобрали пробы крови из сердца в две вакуумные пробирки без антикоагулянта для получения сыворотки и с антикоагулянтом для её нативного состояния (цельная кровь). Биохимические показатели в крови определяли с помощью коммерческих наборов реагентов (ООО «ДС.Мед», РФ), гематологические параметры согласно методическим указаниям департамента ветеринарии РФ [8].

Интенсивность роста оценивали по показателям удельной скорости роста (УСР), абсолютного (АП) и относительного (ОП) прироста [7]. При этом расчёт проводили по формулам:

АП = МК – МН) / ДК (г/сут),

ОП = ((МК – МН) / МН) 100 (%),

УСР = (2(МК – МН) / (МК + МН) ДК) Х100 (%), где

МН – масса рыбы в начале оценочного периода (г),

МК – масса рыбы в конце оценосоного периода (г),

ДК – продолжительность оценочного периода кормления (сут).

Статистическая обработка полученных результатов, проводимая с использованием программ «Statistica 8.0» включала в себя расчёт средней арифметической и её стандартной ошибки (M±m), а межгрупповое различие (p) оценивали по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Наблюдение за рыбой во время опыта показало, что сохранность в лотке №1 составила 93,5%, а в №2 97,0%. Масса рыбы в начале опыта не имела достоверного межгруппового различия, но в конце наблюдения масса особей, которые получали комбикорм с добавкой, оказалась на 15% выше (таб. 1).

При этом абсолютный прирост у особей, получающих комбикорм, с изучаемой добавкой оказался выше на 10,9%, а относительный – на 10,6%. Представленные результаты указывают на активацию роста рыбы на фоне дачи СМКД. Однако, помимо этого, имеет место увеличение на 6,4% удельной скорости роста, т.е., кормовая добавка повысила ростовой потенциал роста рыбы в периоды дальнейшего выращивания. Данное положение подтверждается тем, что если в начале опыта длина рыбы в лотках существенно не различалось (№1 – 16,7±1,25 см, №2 – 16,5±1,31 см), то через 60 суток особи из группы контроля оказались на 1,47±0,020 см короче (№1 – 22,48±0,600 см, №2 – 23,95±0,53 см). Помимо этого, у рыб из лотка №1 и №2 соотношение масса: длина составила соответственно 9,65 и 9,61г/см. Таким образом, СМКД, помимо ростостимулирующего эффекта, активирует рост осевого скелета и снижает весовую нагрузку на него, что создаёт более благоприятные условия дальнейшего развития и роста.

Результаты вскрытия рыбы на заключительном этапе опыта показали, что расположение, внешний вид, размеры и масса внутренних органов, не имеют каких либо различий у особей из сопоставимых лотков. Таким образом, нет негативного влияния СМКД на морфометрические параметры рыб.

В таблице 2 представлены результаты исследования крови, сравнительный анализ которых показал, что в начале опыта нет достоверных различий изучаемых величин, но на заключительном этапе наблюдения отмечено достоверное изменение состава крови. При этом у рыб из лотка №2 в сравнении с показателями контроля (№1) выявлен более высокий уровень гемоглобина (на 5,4%), хотя количество эритроцитов достоверно не различается. В результате содержание гемоглобина в эритроцитах после курса дачи кормовой добавки возросло на 1,1% и оказалось выше контроля на 6,7%. Таким образом, СМКД оказывает влияние на процессы эритропоэза, в частности повышает выработку эритроцитов с более высоким функциональным потенциалом переноса гемоглобина.

Таблица 1 – Показатели интенсивности роста рыбы

Показатели	Лоток №1	Лоток №2
Вес одной особи в начале опыта, г	97,5±5,17	97,7±7,00
Вес в конце опыта, г	217,0±7,20	230,2±7,85*
АП, г/сут	1,991	2,208
ОП, %	122,56	135,62
УСР, %	1,266	1,347

*Примечание: *- p < 0,05 в сравнении с показателями рыбы из лотка №1.*

Показатели	Лоток №1		Лоток №2	
День опыта	1	60	1	60
К-во проб, шт	10	10	10	10
Кровь цельная				
Эритроциты, млн/мкл	1,34±0,27	1,40±0,19	1,34±0,15	1,39±0,20
Гемоглобин, г/л	69,4±1,32	68,8±1,06	69,5±1,31	72,5±1,00*
МСН	51,8	49,1	51,8	52,4
Сыворотка крови				
Общий белок, г/л	37,7±0,78	38,0±1,14	37,9±0,65	37,7±0,83
АсАТ, Е/л	236,0±4,28	241,5±4,12	240,2±5,83	255,5±4,17*
АлАТ, Е/л	10,1±0,55	16,7±1,04	10,3±0,67	11,1±0,72*
Мочевина, мМ/л	0,95±0,08	1,27±0,06	0,93±0,10	1,20±0,08*
Общий холестерин, мМ/л	2,17±0,14	2,36±0,10	2,20±0,12	2,44±0,11
Креатинин, мкМ/л	18,2±0,48	21,0±1,03	18,3±0,73	22,8±0,81
МДА, нМ/мг белка	1,12±0,017	2,06±0,020	1,15±0,011	1,23±0,013*

** – p < 0,05 в сравнении с показателями рыбы из лотка №1.*

Уровень общего белка у рыб из лотка №2 существенно отличается от показателей в контроле, активность АсАТ оказалось выше на 5,8%, но АлАТ ниже на 33,5%. При этом, соотношение между АсАТ и АлАТ, которое вначале опыта не имело межгруппового различия (23,36 и 23,32), через 60 дней эксперимента в контроле снизилось и оказалось меньше, чем в сопоставимом лотке на 37,2% (№1 – 14,45, №2 – 23,0). Учитывая, что аспартатаминотрансфераза преимущественно выделяется в печени и ткани сердца, но аланинаминотрансфераза только в печени [9], можно предположить возникновение риска патологии печени у рыб лотке №1. Содержание мочевины в течение опыта увеличилось у всех рыб, аналогичная тенденция отмечена и у кретианина. Эти два метаболита являются конечными продук-

тами метаболизма белка и выводятся из крови в клубочках почек, однако в проксимальных канальцах мочевина подвергается реабсорбции, а всасывание креатинина минимальное. Поэтому, при нарушении клубочковой фильтрации нарушается соотношение азота мочевины и креатинина [10,11]. В нашем опыте у рыб из лотка №1 отмеченное соотношение увеличилось с 52,2 до 60,5, а в №2 с 50,8 до 52,6. В результате уровень данного показателя в контроле оказался на 15,0% выше, что указывает на наличие гемодинамических или функциональных сбоев работы почек [12,13]. Постоянным компонентом патогенеза функциональных нарушений или наличия патологии печени и почек является синдром эндогенной интоксикации, маркерами которого являются продукты изменённого обмена веществ, в частности при активации перекисного окисления липидов является малоновый диальдегид [14]. В начале опыта не было существенного межгруппового различия по содержанию данного показателя в крови, однако на заключительном этапе наблюдения в контроле его уровень оказался на 67,5% выше, чем у особей, получающих изучаемую кормовую добавку, что указывает на наличие у рыб из лотка №1 синдрома эндогенной интоксикации.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Результаты проведённых исследований показали, что сорбционно - метаболическая кормовая добавка, разработанная сотрудниками ФГБОУ ВО СПбГУВ и ООО «ЭкоГрупп» (Россия), не оказывает негативного влияния на организм рыб. Применение её в течение 60 дней радужной форели в период выращивания не только увеличила массу и размеры её тела, но повысила ростовой потенциал в периоды дальнейшего выращивания. Интенсификация технологий аквакультуры повышает функциональную нагрузку на организм рыбы с возникновением риска нарушения обмена веществ и развития патологии. Подобную ситуацию мы наблюдали у представителей из группы контроля, у которых возник синдром эндогенной интоксикации, появились ранние симптомы нарушения функций печени и почек. Введение в состав комбикорма сорбционно-метаболической кормовой добавки нивелировало возникновение указанных патофизиологических изменений. Таким образом, разработанная сорбционно - метаболическая кормовая добавка безвредная для рыб, оказывает положительное влияние на их рост и развитие, снижает риски метаболических нарушений и развития патологий. Все это даёт основание для применения данной кормовой добавки в аквакультуре.

PRODUCTION TESTING OF SORPTION FEED ADDITIVE FOR RAINBOW TROUT

Popova O.S. [1*] – Ph.D. of Veterinary Science, Associate Professor Pharmacology and Toxicology (ORCID 0000-0002-0650-0837); **Alekhin Yuri N.**[2]– DSc in Veterinary sciences, Chief Researcher of the Experimental Therapy Department, (ORCID 0000-0003-0666-7722).

[1] FSBEI HE St.Petersburg SUVM

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

* alef_z@mail.ru

ABSTRACT

Against the backdrop of intensification of aquaculture technologies, the severity of deterrent factors is increasing; among the most relevant in this issue, the quality of feed should be noted, the low level of which creates the risks of feed poisoning, metabolic disorders and the initiation of disease development. In the conditions of fish farms, research was carried out to study the safety and effectiveness of using a sorption-metabolic feed additive for fish, developed by employees of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education of St. Petersburg State University of Internal Affairs and EcoGroup LLC (Russia). The object of the study was rainbow trout, which during the growing period for 60 days received feed with the specified additive. Statistical processing of the results obtained using the Statistica 8.0 program included the

calculation of the arithmetic mean and its standard error (M±m), and the intergroup difference (p) was assessed using the student's t test. The results of the study showed that the developed feed additive does not have a negative effect on the fish body, and its use eliminates the occurrence of metabolic disorders and the development of liver and kidney pathologies, the risk of which increases with the intensification of aquaculture technology. Against the backdrop of giving a new feed additive, not only does the weight and body size of the fish increase, but its growth potential during periods of further cultivation increases. Thus, the developed sorption-metabolic feed additive is harmless to fish, has a positive effect on their growth and development, and reduces the risks of metabolic disorders and the development of pathologies. All this provides grounds for the use of this feed additive in aquaculture.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Скляров, В.Я. Состояние товарного рыбоводства в Южном федеральном округе / В.Я. Скляров // Труды Кубанского ГАУ. – 2012. – Вып. 4. – С. 86-89.

2.Кузов А. А., Фирсова А. В., Фирсова Н. В. И соавт. Эффективность применения новых рецептур продукционных форелевых комбикормов в сравнении с импортными аналогами / А. А. Кузов, А. В. Фирсова, Н. В. Фирсова, Е. Н. Широкова // Состояние и пути развития аквакультуры в Российской Федерации: Материалы VIII национальной научно-практической конференции с международным участием, Керчь, 04–06 октября 2023 года. – Саратов: Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова, 2023. – С. 99-102.

3.Волощин Г.В. Состояние и перспективы развития рынка комбикормов для индустриальной аквакультуры в Российской Федерации / Г. В. Волошин, Е. Б. Акимов, Р. В. Артемов, В. В. Гершунская // Труды ВНИРО. 2022 г. Т. 190. С. 163-169

4.Кононенко, Г. П. Риски возникновения микотоксикозов рыб в условиях аквакультуры (обзор) / Г. П. Кононенко, Д. А. Онищенко, М. И. Устюжанина // Сельскохозяйственная биология. – 2021. – Т. 56, № 2. – С. 261-278

5.Чернышов Е.В. (2016). Использование сорбента в рационах рыбы. Сельскохозяйственный журнал, 1 (9), 240-243

6. Kosicki R. et al. Multiannual mycotoxin survey in feed materials and feedingstuffs // Animal Feed Science and Technology. – 2016. – Т. 215. – С. 165-180

7.Щербина М.А., Гамыгин Е.А. Кормление рыб в пресноводной аквакультуре. – М.: ВНИРО, 2006. – 364 с.

8.Методические указания по проведению гематологического обследования рыб. - Минсельхозпрод России, 02.02.99 г. № 13 -4-2-/1487. – 20 с.

9.Feng, X., Wen, Y., Peng, F.F. et al. Association between aminotransferase/alanine aminotransferase ratio and cardiovascular disease mortality in patients on peritoneal dialysis: a multi-center retrospective study. BMC Nephrol 21, 209 (2020).

10.Левицкая Е. С., Батюшин М.М. (2022). Канальцевый аппарат почек - научное и прикладное значение. Архивъ внутренней медицины, 12 (6 (68)), 405-421

11. Каюков И.Г., Галкина О.В., Тимшина Е.И., Зубина И.М., Михеева А.Ю., Бердичевский Г.М. Креатинин в современной оценке функционального состояния почек (Обзор литературы и собственные данные). Нефрология 2020;24(4):21-36. doi: 10.36485/1561-6274-2020-24-4-21-36

12.Albanna W, Weiss M, Veldeman M, Conzen C, Schmidt T, Blume C, Zayat R, Clusmann H, Stoppe C, Schubert GA. Urea-Creatinine Ratio (UCR) After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: Association of Protein Catabolism with Complication Rate and Outcome. World Neurosurg. 2021 Jul;151: e961-e971. doi: 10.1016/ j.wneu.2021.05.025. Epub 2021 May 18. PMID: 34020058

13.Traynor J, Mactier R, Geddes CC, Fox JG. How to measure renal function in clinical practice. BMJ. 2006 Oct 7;333 (7571):733-737.

14.Tsikas D. GC-MS and GC-MS/MS measurement of malondialdehyde (MDA) in clinical studies: Pre-analytical and clinical considerations. J Mass Spectrom Adv Clin Lab. 2023 Aug 5; 30:10-24. doi: 10.1016/ j.jmsacl.2023.08.001. PMID: 37637438;

PMCID: PMC10458701.

REFERENCES

1. Sklyarov, V.Ya. The state of commercial fish farming in the Southern Federal District / V.Ya. Sklyarov // Proceedings of the Kuban State Agrarian University. – 2012. – Issue. 4. – pp. 86-89.
2. Kuzov A. A., Firsova A. V., Firsova N. V. et al. Efficiency of using new formulations of production trout feed in comparison with imported analogues / A. A. Kuzov, A. V. Firsova, N. V. Firsova, E. N. Shirokova // State and ways of development of aquaculture in the Russian Federation: Materials of the VIII National scientific and practical conference with international participation, Kerch, October 04–06, 2023. – Saratov: Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilova, 2023. – P. 99-102.
3. Voloshchin G.V. State and prospects for the development of the market of compound feed for industrial aquaculture in the Russian Federation / G. V. Voloshin, E. B. Akimov, R. V. Artemov, V. V. Gershunskaya // Proceedings of VNIRO. 2022 T. 190. P. 163-169
4. Kononenko, G. P. Risks of fish mycotoxicosis in aquaculture conditions (review) / G. P. Kononenko, D. A. Onishchenko, M. I. Ustyuzhanina // Agricultural biology. – 2021. – T. 56, No. 2. – P. 261-278
5. Chernyshov E.V. (2016). Use of sorbent in fish diets. Agricultural Journal, 1 (9), 240-243
6. Kosicki R. et al. Multiannual mycotoxin survey in feed materials and feedingstuffs // Animal Feed Science and Technology. – 2016. – T. 215. – P. 165-180
7. Shcherbina M.A., Gamygin E.A. Feeding fish in freshwater aquaculture. – M.: VNIRO, 2006. – 364 p.
8. Guidelines for conducting hematological examination of fish. - Ministry of Agriculture and Food of Russia, 02.02.99, No. 13-4-2-/1487. – 20 s.
9. Feng, X., Wen, Y., Peng, F.F. et al. Association between aminotransferase/alanine aminotransferase ratio and cardiovascular disease mortality in patients on peritoneal dialysis: a multi-center retrospective study. BMC Nephrol 21, 209 (2020).
10. Levitskaya E. S., Batyushin M. M. (2022). The tubular apparatus of the kidneys - scientific and applied significance. Archives of Internal Medicine, 12 (6 (68)), 405 -421
11. Kayukov I.G., Galkina O.V., Timshina E.I., Zubina I.M., Mikheeva A.Yu., Berdichevsky G.M. Creatinine in modern assessment of the functional state of the kidneys (Literature review and own data). Nephrology 2020;24(4):21-36. doi: 10.36485/1561-6274-2020-24-4-21-36
12. Albanna W, Weiss M, Veldeman M, Conzen C, Schmidt T, Blume C, Zayat R, Clusmann H, Stoppe C, Schubert GA. Urea-Creatinine Ratio (UCR) After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: Association of Protein Catabolism with Complication Rate and Outcome. World Neurosurg. 2021 Jul;151: e961-e971. doi: 10.1016/j.wneu.2021.05.025. Epub 2021 May 18. PMID: 34020058
13. Traynor J, Mactier R, Geddes CC, Fox JG. How to measure renal function in clinical practice. BMJ. 2006 Oct 7;333 (7571):733-737.
14. Tsikas D. GC-MS and GC-MS/MS measurement of malondialdehyde (MDA) in clinical studies: Pre-analytical and clinical considerations. J Mass Spectrom Adv Clin Lab. 2023 Aug 5; 30:10-24. doi: 10.1016/j.jmsacl.2023.08.001. PMID: 37637438; PMCID: PMC10458701.

ЗООГИГИЕНА, САНИТАРИЯ, КОРМЛЕНИЕ

УДК: 597.442:639.3.043.2:574.632:579
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.127

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ МАЛЬКА СТЕРЛЯДИ ПРИ БАКТЕРИАЛЬНОМ ЗАГРЯЗНЕНИИ ВОДЫ

Микряков Д.В.* – зав. лабораторией иммунологии, кандидат биологических наук (ORCID 0000-0001-9086-1688); **Кузьмичева С.В.** – науч. сотр. лабораторией иммунологии ORCID 0000-0001-9476-3858); **Новиков Д.А.** – заведующий Стационаром полевых, экспериментальных и экспедиционных работ (ORCID 0009-0005-6172-7785).

ФГБУН «Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН»

* daniil@ibiw.ru

Ключевые слова: *малек стерляди, кормовая добавка «АКВАТАН», биологически активная добавка «Экофлор», пробиотик «СУБ-ПРО», антибактериальный препарат «Антибак-100», выживаемость.*

Keywords: *sterlet fry; feed additive «AQUATAN»; bioactive supplement «Ecoflor»; probiotic «SUB-PRO»; antibacterial preparation «Antibak-100»; survival.*

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

Поступила: 16.10.2023 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

В настоящее время аквакультура – надежный источник увеличения объемов пищевой рыбопродукции и служит гарантом продовольственной безопасности. Стерлядь Acipenser ruthenus L. – один из основных объектов пресноводной аквакультуры. Кормление искусственным кормом, высокие плотности посадки и другие негативные факторы промышленного рыбоводства неизбежно ведут к увеличению стрессовых нагрузок. Это отражается на физиологическом состоянии рыб. Нарушения в функционировании иммунной системы приводит к вспышкам инфекционных заболеваний и эпизоотическому неблагополучию рыбоводных хозяйств. В современной аквакультуре для лечения и профилактики бактериальных заболеваний используют различные антибиотики, пробиотики и препараты растительного происхождения. В данной работе исследовано влияние различных кормовых добавок на выживаемость мальков стерляди к возбудителям инфекционных заболеваний. Для этого по 150 особей рассадили в отдельные бассейны, где в составе микрофлоры воды было высокое содержание миксобактерий и аэромонад. Исследования проводили в 5 отдельных бассейнах: контрольная группа корм и 4 опытных с разными кормовыми добавками. Продолжительность эксперимента 75 суток. Во время опыта фиксировали ко-

личество выживших мальков, а в конце рассчитали выживаемость – процент от общего количества рыб, изначально посаженных в каждый бассейн. Установлены отличия влияния различных кормовых добавок на выживаемость мальков. Наиболее высокий отход зафиксирован в контрольной группе, а наименее – в группе с препаратом «Антибак-100». В остальных опытных группах процент выживших мальков был выше, чем в контроле.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В настоящее время аквакультура – надежный источник увеличения объемов пищевой рыбопродукции и служит гарантом продовольственной безопасности [1]. Стерлядь *Acipenser ruthenus* L. – один из основных объектов пресноводной аквакультуры [2]. При выращивании рыбы часто подвергаются действию неблагоприятных стресс-факторов (колебаний кислородного и температурного режимов, изменений pH-среды и условий кормления, транспортировки и др.), которые приводят к снижению иммунитета и выживаемости, а также темпов роста и развития [3; 4; 5; 6].

Снижение устойчивости рыб к возбудителям инфекционным заболеваний приводит к эпизоотическому неблагополучию прудовых рыбоводных хозяйств и наносит большой экономический ущерб при культивировании рыб. В современной аквакультуре при лечении бактериальных заболеваний часто используют антибактериальные препараты (антибиотики) [7; 8; 9; 10], а для проведения неспецифической иммунопрофилактики различные пробиотики, особенно на основе сенной палочки *Bacillus subtilis* [11; 12; 13; 14]. Также в последние время проводиться много исследований профилактики с помощью препаратов растительного происхождения. Показано, что добавление в корм растительных препаратов улучшает рост, иммунную активность и защиту от возбудителей различных заболеваний, выживаемость рыб [15; 16; 17]. Цель исследований – исследование влияния различных препаратов на выживаемость малька стерляди при загрязнении воды патогенными микроорганизмами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводили на мальках стерляди в возрасте 2 месяцев. Рыб по 150 особей рассаживали в проточные пластиковые бассейны (объем 0,3 м^3) с повышенным уровнем бактериального загрязнения воды. В составе микробиоценоза воды содержалось относительно много эпизоотически опасных для молоди осетровых рыб миксобактерий и аэромонад.

Исследования проводили в 5 отдельных бассейнах: контрольная группа и 4 опытных. Стерлядь кормили 12 раз в сутки кормом (Advance 0,8-1,2 мм) для рыб фирмы «Alltech Coppens». Контрольная группа (I) – корм без добавок, а опытным с добавлением разных препаратов: II – препарат «АКВАТАН» на основе эллаготанинов производства компании «Танин» г. Севница (Словения) из расчета 2 г/кг корма, III – биологически активная добавка «Экофлор» (АО «Вектор-БиАльгам) из расчета 5 г/кг корма опытная, IV – пробиотик на основе *Bacillus subtilis* «СУБПРО» (ООО «Вектор-Евро») из расчета 100 г/т корма, V – антибактериальный препарат на основе ципрофлоксацина «Антибак-100» (ООО «НВЦ Агроветзащита»), из расчета 0,5г/кг живой массы рыб. Препараты в корм добавляли согласно инструкциям.

Эксперимент продолжался два с половиной месяца, в течении которого фиксировали количество погибших мальков во всех бассейнах. В конце опыта рассчитали выживаемость – процент от общего количества рыб, изначально посаженных в каждый бассейн.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Используемые в качестве кормовых добавок препараты оказали влияние на выживаемость опытных рыб (таблица). За время эксперимента установлено, что в зависимости от времени после начала эксперимента величины отхода в разных группах стерляди отличались.

К 20 суткам с начала эксперимента

наиболее большой отход зафиксирован во всех группах. Однако наиболее высокие показатели отмечены в контроле и у рыб, которым добавляли в корм «АКВАТАН» и «Экофлор». Сравнение данных с 20-х по 30 сутки показало более высокую гибель малька во второй группе, между 30-ми и 45-ми сутками в четвертой группе, а в дальнейшем у контрольных рыб.

В конце эксперимента наиболее низкий процент выживаемости зафиксирован у контрольных рыб, а наиболее высокий – у пятой группы, которой добавляли в корм «Антибак-100». Ранее была показана эффективность применения антибактериальных препаратов на основе ципрофлоксацина для лечения и профилактики бактериальных заболеваний карпов [7; 8].

Более высокий процент выживаемости мальков других опытных групп, по сравнению с контролем, вероятно, связан с положительным действием используемых препаратов. Ранее установлено подавление роста патогенной и условно-патогенной микрофлоры в организме рыб после применения разных пробиотиков и препарата «АКВАТАН» и эффективность при выращивании объектов аквакультуры [9; 11; 12; 14; 18].

Таблица 1 – Отход и процент выживаемости мальков стерляди

Время после начала эксперимента	Контроль (I)	Опытные группы рыб			
		Акватан (II)	Экофлор (III)	Суб-Про (IV)	Антибак (V)
Отход через 20 сут	20	21	19	11	8
Отход с 20 по 30 сут	6	10	1	1	5
Отход с 30 по 45 сут	3	0	0	7	4
Отход с 45 по 60 сут	8	0	6	5	0
Отход с 60 по 75 сут	7	3	2	5	1
Итого отход	44	34	28	29	18
Выживаемость, %	70,66	77,33	81,33	80,66	88,0

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Установлено отличия влияния различных кормовых добавок на выживаемость малька стерляди при повышенном содержании в воде возбудителей инфекционных заболеваний. Наиболее низкий процент выживаемости зафиксирован в контрольной группе, а наиболее высокий у группы с препаратом «Антибак-100». В других опытных группах в конце эксперимента количество выживших рыб было выше по сравнению с контролем.

EFFECT OF DIFFERENT PREPARATIONS ON THE SURVIVAL RATE OF STERLET FRY UNDER BACTERIAL POLLUTION WATER

Mikryakov D.V. * – head of laboratory immunology, candidate of Biology (ORCID 0000-0001-9086-1688); **Kuzmicheva S.V.** – researcher (ORCID 0000-0001-9476-3858); **Novikov D.A.** – head of the Station for field, experimental and expeditionary works (ORCID 0009-0005-6172-7785).

Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences

*daniil@ibiw.ru

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

ABSTRACT

Currently, aquaculture is a reliable source of increasing the volume of fish food products and serves as a guarantor of food security. The sterlet Acipenser ruthenus L. is one of the main objects of freshwater aquacul-

ture. Feeding with artificial feed, high planting densities and other negative factors of industrial fish farming inevitably lead to increased stress loads. This affects the physiological state of fish. Disturbances in the functioning of the immune system leads to outbreaks of infectious diseases and epizootic disadvantage of pond fish farms. In modern aquaculture, various antibiotics, probiotics and plant preparations are used to treat and prevent bacterial diseases. In this paper, the effect of different feed additives on the survival rate of sterlet fry to infectious agents was investigated. For this purpose, 150 individuals each were seeded into separate pools with high content of myxobacteria and aeromonads in the water microflora. Studies were conducted in 5 separate pools: control group with feed and 4 experimental pools with different feed additives. The duration of the experiment was 75 days. During the experiment, the number of surviving fries was recorded, and at the end, survival rate was calculated as a percentage of the total number of fish initially planted in each pool. Differences in the effect of different feed additives on the survival rate of fry were found. The highest escapement was recorded in the control group and the least in the group with Antibac-100. In the other experimental groups, the percentage of surviving fry was higher than in the control.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

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

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

3. Валова, В. Н. Оценка физиологического состояния двухлетков осетровых рыб при садковом выращивании в условиях тепловодного хозяйства / В. Н. Валова, В. М. Воропаев // Тепловодная аквакультура и биологическая продуктивность водоемов аридного климата. Матер. междунар. симп. – Астрахань. –2007. – С. 442-444.

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

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

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

7. Гончарова, М. Н. Антимикробный препарат для лечения бактериальных болезней рыб / М. Н. Гончарова // Вестн. Рос. акад. с.-х. наук. – 2009. – № 2. – С. 77-78. – Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=12364520

8. Енгашев, В. Г. Дифференциальная диагностика краснухи карпов в условиях рыбоводных хозяйств / В. Г. Енгашев, П. А. Березин, К. В. Гаврилин // Ветеринария Кубани. – 2008. – № 3. – С. 26. – Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=13027514

9. Головин, П. П. Профилактика и терапия болезней рыб / П. П. Головин, Н. А. Головина, И. С. Щелкунов, Л. Н. Юхименко // Рыбоводство и рыбное хозяйство. – 2006. – № 3. – С. 62-63. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=29820570

10. Юхименко, Л. Н. Лечебные и профилактические мероприятия против бактериозов в рыбоводстве / Л. Н. Юхименко, С. Б. Токарева, М. С. Кукин, Л. И. Бычкова // Ветеринария и кормление. – 2021. –

№ 6. – С. 67-69. – DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2021-6-18. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47419316
11. Бурлаченко, И. В. Применение пробиотиков на ранних стадиях эмбрионального развития ленского осетра / И. В. Бурлаченко, Е. В. Малик // Ветеринария. – 2007. – № 3. – С. 47-51. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=9486836
12. Бурлаченко, И. В. Перспективные пробиотики для осетровых рыб / И. В. Бурлаченко, Н. В. Судакова, Е. И. Балакириев, Д. А. Мордовцев, Е. В. Малик // Рыбное хозяйство. – 2006. – № 3. – С. 64-65. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=18092735
13. Бычкова, Л. И. Пробиотический препарат СУБ-ПРО (субалин) – альтернатива антибиотикам / Л. И. Бычкова, Л. Н. Юхименко, А. Г. Ходак, О. С. Скоробогатько // Рыбоводство. – 2008. – № 2. – С. 48-49. – Режим доступа: https://elibrary.ru/author_items.asp?authorid=1028699&pubrole=100&show_refs=1&show_option=0
14. Грозеску, Ю. Н. Биологическая эффективность применения пробиотика субтилис в составе стартовых комбикормов для осетровых рыб / Ю. Н. Грозеску, А. А. Бахарева, Е. А. Шульга // Известия Самарского научного центра РАН. – 2009. – Т. 11. – № 1. – С. 42-45. – Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=13619347
15. Immanuel, G. Dietary medicinal plant extracts improve growth, immune activity and survival of tilapia Oreochromis mossambicus / G. Immanuel, R. P. Uma, P. Iyapparaj, T. Citarasu, S. M. Punitha Peter, M. Michael Babu, A. Palavesam // J. Fish Biol. – 2009. – 74, – № 7. – P. 1462-1475.
16. Masalhy, Aly Salah. Effect of garlic, echinacea, organic green and vet-yeast on survival, weigth gain, and bacterial challenge of overwintered Nile tilapia fry (Orechromisniloticus) / Aly Salah Masalhy, El Naggar Gamal Osman, Mohamed Mohamed Fathi, Mohamed Waheed Elwan // J. Appl. Aquacult. – 2010. – V. 22, – № 3. – P. 210-215.
17. Tkachenko, H. The antibacterial activity of the ethanolic leaf extract of FicusPumilla L. (MORACEAE) against Fich Bacterial Patogens / H. Tkachenko, L. Buyun, O. Kasiyan, E. Terech-Majewska, Z. Osadowski // Scientific Journal of the Far East State Technical Fisheries University. – 2018. – № 2. – T. 45. – P. 20-30.
18. Использование эллаготанинов в рационах аквакультуры. [Электронный ресурс] – 2020. – URL: https://apknews.su/article/213/2594/ (дата обращения 04.08.2021).

REFERENCES

1. Bogeruk, A. K. Aquaculture of Russia: history and modernity / A. K. Bogeruk // Fisheries.2005:4:14-18. – URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=18215569 (In Russ.)
2. Vinogradov, V. K. Biotechnology of commercial sturgeon farming / V. K. Vinogradov, E. A. Melchenkov // Aquaculture of the early 21st century: origins, status, development strategy. Mat. international scientific-practical conf. – Moscow. 2002:81-87.
3. Valova, V. N. Assessment of the physiological state of two-year-old sturgeon fish during cage rearing in warm-water conditions / V. N. Valova, V. M. Voropaev // Warm-water aquaculture and biological productivity of reservoirs of arid climate. Mater. international symp. – Astrakhan. 2007:442-444.
4. Golovin, P. P. The problem of stress in fish in freshwater aquaculture: methods of diagnosis and correction / P. P. Golovin // Fish diseases: Coll. scientific tr. – Moscow: Sputnik Company, 2004:79:54-61.
5. Mikryakov, V. R. Patterns of the formation of acquired immunity in fish / V. R. Mikryakov. – Rybinsk: «IBVV RAS», 1991:153. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21224668 (In Russ.)
6. Naumova, A. M. Ichthyological control at sturgeon hatcheries / A. M. Naumova, O. M. Valedskaya, L. V. Lartseva, N. A. Golovina, L. N. Yukhimenko, A. Yu. Naumova, A. V. Kazarnokova, E. V. Shestakovskaya, M. G. Trofimova, N. A. Efimova // Abstracts of the international conference: Sturgeon at the

turn of the 21st century - Astrakhan: Publishing House "KaspNIRKH", 2000:268-269.
7. Goncharova, M. N. Antimicrobial drug for the treatment of bacterial diseases of fish / M. N. Goncharova // Vestn. Ross. acad. agricultural Sci.2009:2:77-78. – URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=12364520 (In Russ.)
8. Yengashev, V. G. Differential diagnosis of rubella in carp in fish farms / V. G. Yengashev, P. A. Berezin, K. V. Gavrilin // Veterinary Science of Kuban.2008:3:26. – URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=13027514 (In Russ.)
9. Golovin, P. P. Prevention and therapy of fish diseases / P. P. Golovin, N. A. Golovina, I. S. Shchelkunov, L. N. Yukhimenko // Fish farming and fisheries.2006:3:62-63. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=29820570 (In Russ.)
10. Yukhimenko, L. N. Therapeutic and preventive measures against bacterial diseases in fish farming / L. N. Yukhimenko, S. B. Tokareva, M. S. Kukin, L. I. Bychkova // Veterinary medicine and feeding.2021:6:67-69. – DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2021-6-18. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47419316 (In Russ.)
11. Burlachenko, I. V. The use of probiotics in the early stages of embryonic development of Lena sturgeon / I. V. Burlachenko, E. V. Malik // Veterinary Medicine.2007:3:47-51. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=9486836 (In Russ.)
12. Burlachenko, I. V. Promising probiotics for sturgeon fish / I. V. Burlachenko, N. V. Sudakova, E. I. Balakiriev, D. A. Mordovtsev, E. V. Malik // Fisheries.2006:3:64-65. – URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=18092735 (In Russ.)
13. Bychkova, L. I. Probiotic drug SUBPRO (subalin) - an alternative to antibiotics / L. I. Bychkova, L. N. Yukhimenko, A. G. Khodak, O. S. Skorobogatko // Fish farming.2008:2:48-49. – URL: https://elibrary.ru/author items.asp?authorid=1028699&pubrole=100&show refs=1&show option=0 (In Russ.)
14. Grozescu, Yu. N. Biological effectiveness of the use of the probiotic subtilis as part of starter feed for sturgeon fish / Yu. N. Grozescu, A. A. Bakhareva, E. A. Shulga // News of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences.2009:11;1:42-45. – URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=13619347 (In Russ.)
15. Immanuel, G. Dietary medicinal plant extracts improve growth, immune activity and survival of tilapia Oreochromis mossambicus / G. Immanuel, R. P. Uma, P. Iyapparaj, T. Citarasu, S. M. Punitha Peter, M. Michael Babu, A. Palavesam // J. Fish Biol.2009:74;7:1462-1475.
16. Masalhy, Aly Salah. Effect of garlic, echinacea, organic green and vet-yeast on survival, weigth gain, and bacterial challenge of overwintered Nile tilapia fry (Orechromisniloticus) / Aly Salah Masalhy, El Naggar Gamal Osman, Mohamed Mohamed Fathi, Mohamed Waheed Elwan // J. Appl. Aquacult.2010:22;3:210-215.
17. Tkachenko, H. The antibacterial activity of the ethanolic leaf extract of FicusPumilla L. (MORACEAE) against Fich Bacterial Patogens / H. Tkachenko, L. Buyun, O. Kasiyan, E. Terech-Majewska, Z. Osadowski // Scientific Journal of the Far East State Technical Fisheries University.2018:2;45:20-30.
18. Use of ellagitannins in aquaculture diets. 2020. URL: https://apknews.su/article/213/2594/ (date of access 04.08.2021).

УДК: 611.423: 611.317: 599.735.52
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.133

СОДЕРЖАНИЕ АФЛАТОКСИНА М1 В МОЛОКЕ КОРОВ ФЕРМ ТУРЦИИ: ВЛИЯНИЕ НА КАЧЕСТВО МОЛОКА И ЭФФЕКТИВНОСТЬ СВЯЗЫВАНИЯ МИКОТОКСИНА АДСОРБЕНТОМ НА ОСНОВЕ ГЛИНЫ

Йилмаз Д.А.[*] – физиолог, асс. по исследованиям Факультет наук о здоровье (ORCID 0000-0001-8096-5504).

Университет Агри Ибрагима Чечена, Турция

[*] alper96@outlook.com

Ключевые слова: *афлатоксин, молочный скот, микотоксины, адсорбция токсинов, оптимальный сезон доения*

Key words: *aflatoxin, dairy cattle, mycotoxins, toxin adsorption, optimal milking season*

Поступила: 11.01.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Цель данного исследования – оценить концентрацию афлатоксина М1 (AFM1) в молоке коров голштино-фризской породы на местных фермах, расположенных в двух разных городах Турции, изучить влияние этого микотоксина на качество молока и сезонные колебания, а также оценить эффективность коммерческого адсорбента вещества на основе глины. В рамках исследования образцы молока от 144 молочных коров были проанализированы на наличие AFM1 до использования адсорбента токсина на основе глины. В результате этого анализа в 26,9 % образцов молока, взятых у коров, были обнаружены уровни AFM1, превышающие допустимый предел США в 0,5 мкг/кг. Кроме того, в 36,5 % зимних и 18,6 % летних образцов молока был обнаружен AFM1. Присутствие AFM1 вызвало снижение уровня молочного жира, сухого вещества и белка. В дальнейшем пораженные коровы были разделены на две группы: контрольную группу (n = 14) и опытную группу (n = 26). Коров опытной группы ежедневно скармливали 25 г/корову адсорбента токсина на основе глины. В группе лечения наблюдалось постепенное снижение уровня AFM1 на 24,4 % на 4-й день и на 48,9 % на 7-й день. Кроме того, значительно увеличилось содержание жира, обезжиренных сухих веществ и белка в молоке. В результате исследования был обнаружен высокий уровень загрязнения AFM1 в молоке, что, как можно предположить, негативно сказывается на качестве производства молока. Использование адсорбента токсинов на основе глины может быть эффективным методом улучшения качества молока и защиты здоровья коров и потребителей.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Афлатоксины – это токсичные вторичные метаболиты, вырабатываемые грибами рода Aspergillus, и относятся к группе микотоксинов, вызывающих различные вредные эффекты у позвоночных животных. Эти токсины образуются в результате неправильного хранения кормов и концентратов. Афлатоксин B1 (AFB1), в частности, накапливается в рубце животных, потребляющих загрязненные корма, и затем всасывается через пищеварительный тракт [1]. AFB1 преобразуется в AFM1 в гепатоцитах под действием микросомального цитохрома P450, а затем выводится через молоко [2]. В ходе этой трансформации AFB1 вызывает образование реактивных перекисей. Компоненты молока коров, особенно жир, обезжиренные сухие вещества и белки, подвергаются воздействию присутствия AFM1, и их уровень снижается [3]. Это было связано с нарушением иммунного ответа у молочных коров из-за негативного влияния AFM1 [4, 5].

Контаминация кормов афлатоксинами зависит от сезона; например, условия более благоприятны для производства микотоксинов летом, когда температура высокая, и осенью, когда окружающая среда влажная [6]. Молоко является важным компонентом пищевой пирамиды и богатым источником кальция и белка. Хотя AFM1 менее токсичен, чем афлатоксин B1, он представляет собой серьезную угрозу для здоровья человека, а также для здоровья животных [4]. AFM1 может вызывать как острые, так и хронические токсикозы, обладает канцерогенными свойствами, связанными с печенью и почками, а также может привести к проблемам со здоровьем у потребителей молока [7]. Потребление AFM1 также может быть связано с риском отставания в росте. Влияние афлатоксина M1 зависит от возраста, пола, сезона и привычек кормления пациента. Низкая продуктивность, субклинический мастит, низкая моторика рубца, нарушения свертываемости крови, гепатотоксичность, иммуносупрессия и мутации являются важными последствиями воздействия афлатоксинов на здоровье животных. Также важно отметить, что грудное вскармливание связано с наличием афлатоксина M1 в организме младенцев [8]. В Турции для поддержания приемлемого уровня потребления молока и молочных продуктов установлен предел содержания AFM1 до 0,5 мкг/кг. [9]. Проблема загрязнения молока AFM1 может быть решена путем прямого снижения содержания AFM1 в загрязненном молоке или косвенного снижения загрязнения AFB1 в кормах для коров. Для этой цели использовались связывающие токсины препараты, уменьшающие присутствие и воздействие AFM1 [5]. Эффективно используются связывающие токсины вещества на основе глины, такие как гидратированные натриево-кальциевые алюмосиликаты [HSCAS], бентониты, цеолиты и древесный уголь [5].

В организме животного связывающие токсины вещества действуют двумя способами. Во-первых, они образуют комплексы в пищеварительном тракте животного. Впоследствии эти комплексы выводятся с фекалиями и снижают биодоступность токсинов [10]. Другой метод заключается в захвате афлатоксина B1 и изменении его химической структуры таким образом, чтобы афлатоксин B1 не мог преобразовываться в AFM1 в молоке. Некоторые активированные углероды могут связывать микотоксины и устранять их действие. Хотя эффективность активированных углей различна, бентониты были хорошо изучены как эффективный адсорбент для микотоксинов [11]. Наличие афлатоксинов, влияющих на качество молочных продуктов, является одной из наиболее важных проблем, с которыми сталкивается турецкая молочная промышленность. Местные молочные фермеры борются с экономическими потерями из-за низких цен на молоко,

содержащее афлатоксины. [12]. В результате обзора литературы не было найдено ни одного исследования, посвященного определению уровня AFM1 на местных молочных фермах в Турции, изучению сезонной изменчивости уровня AFM1 и влияния потребления глиняного адсорбента на уровень микотоксина. Цель данного исследования - оценить концентрацию AFM1 в молоке коров голштино-фризской породы на местных фермах, расположенных в двух разных городах Турции, изучить влияние этого микотоксина на качество молока и сезонные колебания, а также исследовать эффективность коммерческого адсорбента вещества на основе глины.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Экспериментальный дизайн

В исследование были включены образцы молока от 144 лактирующих коров голштино-фризской породы (между 2-й и 5-й парой, ранняя и средняя лактация). Образцы были взяты случайным образом на десяти отобранных молочных фермах в провинциях Бурса и Агры Турции в период с августа 2022 года по июнь 2023 года. В общей сложности 80 образцов молока были взяты зимой (декабрь-февраль) и 64 образца - летом (март-июнь). Все коровы выращивались в полуконтролируемых системах земледелия, а количество образцов от каждой фермы варьировалось от 8 до 16.

Анализ и тестирование

Лаборатория Чеченского университета имени Ибрагима Чечена была выбрана аналитическим центром для определения уровня AFM1 в образцах молока. Из 144 образцов молока 40 (n = 40) имели уровень афлатоксина M1 выше допустимого предела (0,5 мкг/кг) в соответствии со стандартом Соединенных Штатов Америки (США). Коровы с такими высокими уровнями (n = 40) были отобраны для терапевтического исследования. 14 коров были использованы в качестве клинически положительного контроля, а остальные коровы (n = 26) были включены в экспериментальную группу. Во время исследования препарат Вибонд (производитель: Вимар, доза введения: Практическая доза: 10 г на одну дойную корову в день, Тип упаковки: В крафт-мешках по 25 кг, Состав: Бентонит), связующее вещество на основе глины, содержащее очищенный диоксид кремния, применялось.

Все коровы (n = 144), включая контрольную и опытную группы, находились на одинаковом режиме кормления. Протоколы отбора проб проводились во время утренней и/или вечерней дойки. 250 мл свежих образцов молока от каждой из 144 дойных коров собирались в одноразовые пластиковые бутылки с плотно прилегающими завинчивающимися крышками для скрининга уровня AFM1 в организме коров. Образцы молока от выбранных коров были взяты на 0, 4 и 7-й день после кормления адсорбентом на основе глины. Образцы надлежащим образом маркировались, доставлялись в лабораторию по холодовой цепи и исследовались в тот же день.

При обработке образцов строго следовали инструкциям производителя. Образцы молока разливали в микропробирки для центрифугирования при относительной центробежной силе 136 (rcf) в течение 5 минут при комнатной температуре (27 °C). Отбирали 300 микролитров (300 мкл) образцов молока и охлаждали после удаления масла из микропробирки. Для количественного определения SL Aflatoxin M1 буфер для количественного определения SL Aflatoxin M1 добавляли к образцу молока в микропробирке. Затем его помещали в прибор Charm EZ Lite. Данная система предназначена для упрощения тестирования, уменьшения ошибок оператора и получения результатов в реальном времени по AFM1 путем автоматической регулировки температуры, калибровки анализа и времени инкубации [13].

Для оценки качества молока проверяли соотношение жира, сухих нежирных веществ (СВЖВ) и белка. Содержание жира определялось по методу Гербера. Общее количество сухих веществ (ВСВ) и СВЖВ оценивали по формуле Ричмонда следующим образом:

ВСВ (%) = скорректированное показание лактометра/4 + 1,21 содержание жира в молоке + 0,14 (1)

СВЖВ (%) = скорректированное показание лактометра/4 + 0,21 содержание жира в молоке + 0,14 (2)

Белок молока оценивали с помощью фенолфталеинового индикатора (% белка = V1 - V2 × 1,94). По этой формуле нормальное значение молочного белка, равное 0,32-0,37 V1, - это начальное показание бюретки, а V2 - конечное показание, при котором цвет меняется во время титрования N/10 NaOH [14].

Статистический анализ

Данные, полученные в ходе исследования, были нормально распределены по объему выборки для различных параметров исследования (заболеваемость AFM1, влияние адсорбента микотоксинов, качество молока до и после применения адсорбента микотоксинов). Для определения частоты встречаемости AFM1 использовали тест Хи-квадрат Пирсона. Повторные измерения образцов молока для определения концентрации AFM1 в дни 0, 4 и 7 проводились с использованием дисперсионного анализа повторных измерений (ANOVA). Влияние AFM1 на показатели качества молока (жир, SNF и белок) рассчитывали с помощью парного t-теста с использованием программного обеспечения SPSS v25.0 (IBM, США). Уровень значимости для статистического анализа определяли при 5%-ном уровне вероятности ($P<0,05$). Полученные результаты были интерпретированы в соответствии с основными задачами и гипотезами исследования.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Среди 144 исследованных образцов молока 26,39% образцов молока в провинции Бурса содержали уровень AFM1 выше допустимого предела (0,5 мкг/кг), а 22,86% образцов молока в провинции Агры содержали уровень AFM1 выше допустимого предела. Частота встречаемости AFM1 выше допустимого предела во всех 144 образцах составила 26,39% (40/144) (таблица 1).

Зимой в 36,5 % образцов молока уровень AFM1 превышал допустимые пределы. Летом в 27,8% образцов молока в двух исследуемых городах уровень AFM1 превышал рекомендуемые безопасные пределы (таблица 2).

После анализа молока в качестве терапевтического средства для образцов, пораженных AFM1, использовали адсорбент токсинов на основе глины и измерили его эффективность. В ходе исследования было зафиксировано снижение уровня AFM1 на 24,4 % на 4-й день и на 48,9 % на 7-й день после лечения (таблица 3).

Наличие афлатоксина M1 является единственным фактором, влияющим на качество молока, снижая уровень жира, сухого вещества (СНФ) и белка (табл. 4).

Таблица 1 – Распространенность афлатоксина M1 в образцах молока 144 молочных коров из Бурсы и провинции Бурса и Агры

Регион	Количество тестируемых молочных коров (n)	Количество положительных коров (> 0,5 мкг/кг)	Распространенность % (при 95% ДИ)	P-value
Бурса	74	22	29.73± 13.8	
Агры	70	16	22.86± 14.7	0.321
Всего	144	40	26.39± 11.2	

ДИ = доверительный интервал

Таблица 2 – Сезонный эффект афлатоксина М1 у молочных коров в провинциях Бурса и Агры

Сезон	Количество тестируемых молочных коров (n)	Количество положительных коров (> 0,5 мкг/кг)	Распространенность % (при 95% ДИ)	P-value
Зима	74	27	36,5[a] ± 11,8	
Лето	70	13	18,6[b] ± 14,7	0.143
Всего	144	40	27.8 ± 10.6	

[a-b] *Значения, отмеченные разными надстрочными знаками в одном столбце, достоверно различаются (P < 0,05). Тест хи-квадрат Пирсона. ДИ = доверительный интервал*

Таблица 3 – Снижение (%) уровня афлатоксина М1 у дойных коров в двух регионах после применения токсин-связывающих препаратов в течение 7 дней

Афлатоксин М1 в молоке коров	День 0 среднее ± SD (мкг/кг)	День 4 среднее ± SD (мкг/кг)	День 7 среднее ± SD (мкг/кг)	P-value
подопытные коровы (n = 26)	0.54 ± 0.16	0.40 ± 0.18	0.27 ± 0.12	**0.05<**
Снижение (%)		24.4[b]	48.9[c]	
контрольные коров (n = 14)	0.52 ± 0.09	0.52 ± 0.14	0.50 ± 0.5	0.1
Снижение (%)		-	4.8	

[a–c] *Средние ± SD в одном ряду, обозначенные разными надстрочными знаками, достоверно различались (P < 0,05) при использовании повторного ANOVA SD = стандартное отклонение; мкг/кг = микрограммы на килограмм.*

Таблица 4 – Концентрация молочного жира, сухого вещества и белка в молоке до и после обработки адсорбентом на основе глины у 40 коров с молочных ферм в провинциях Бурса и Агры

Расположение молочной фермы	Показатели качества молока	До лечения (среднее ± SD)	4-й день после применения (среднее ± SD)	P-value
Коровы в регионе Бурса	Нефть (%)	3.72 ± 0.08	3.94 ± 0.04b	**0.05<**
	Тощие твердые вещества (SNF) (г/л)	8.12 ± 0.22a	8.41 ± 0.12b	**0.05<**
	Молочный белок (г/л)	32.86 ± 1.25	32.92 ± 2.4	0.11
Коровы в регионе Агры	Нефть (%)	3.77 ± 0.07a	3.99 ± 0.05b	**0.05<**
	Сухой обезжиренный молочный остаток. (SNF) (г/л)	7.95 ± 0.26b	8.20 ± 0.32a	0.000
	Молочный белок (г/л)	32.82 ± 1.22a	33.85 ± 1.28b	0.14

[a-b] *Значения, отмеченные разными надстрочными знаками в пределах одного ряда ± SD, достоверно различаются (P < 0,05) SD = стандартное отклонение*

В данном исследовании связыватель токсинов показал значительный эффект в нейтрализации действия афлатоксина М1 в молоке и улучшил качество молока (табл. 5). Уровень афлатоксина М1 на районных молочных фермах в Бурса и Агры до и после использования связывающих токсины препаратов статистически достоверно снизился.

Таблица 5 – Уровень афлатоксина М1 на районных молочных фермах в Бурса и Агры до и после использования связывающих токсины препаратов

Количество протестированных коров	Уровень афлатоксина М1 (мкг/кг)		
	До лечения (день 0) (среднее ± SD)	После применения (4 -й день) (среднее ± SD)	P-value
Бурса (n = 74)	0.54 ± 0.06a	0.34 ± 0.12b	**0.05<**
Агры (n = 70)	0.52 ± 0.04a	0.31 ± 0.07b	**0.05<**

[a-b]Значения, отмеченные разными надстрочными знаками в пределах одного ряда ± SD, достоверно различаются (P < 0,05) при использовании парного выборочного t-теста SD = стандартное отклонение; мкг/кг = микрограммы на килограмм

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

AFM1 в молоке считается важным канцерогенным агентом, особенно при высоком уровне потребления пожилыми и молодыми людьми. [15]. Международное агентство по изучению рака отнесло AFB1 и AFM1 к канцерогенам группы 1 [16]. Наше исследование показало, что. в 24,39 % образцов коровьего молока содержание AFM1 превышало 0,5 мкг/кг, что является допустимым уровнем безопасности для AFM1 в США (для здоровья потребителей).

В исследовании Думана Айдына и коллег (2023) уровень AFM1 в коровьем и буйволином молоке был измерен методом ИФА. AFM1 превышал 0,5 мкг/кг в 24,39 % образцов, что выше допустимого уровня в США. Оруч и соавт. (2011) обнаружили AFM1 во всех образцах молока в Бурсе. Buldu и др. (2011) в Кайсери также отметили высокий уровень AFM1. Урт и Улучай (2017) и Özbey и др. (2023) также проводили анализы. Наши результаты также показали превышение уровня AFM1, но его уровень снижался с лета до зимы из-за влажности [12,17,18,19].

В ходе анализа, проведенного с использованием адсорбента токсина на основе глины, мы обнаружили, что уровень AFM1 постепенно снижался до 7-го дня и, наконец, упал ниже допустимого уровня, установленного для всего скота. Таким образом, очевидно, что использование токсина эффективно для контроля AFM1 в молоке (табл. 3). Результаты нашего исследования согласуются с данными литературы [20, 21]. Афлатоксин может связываться с некоторыми фракциями молочного белка, вызывая снижение уровня молочного белка, что, возможно, связано с вмешательством в синтез компонентов молока [22]. Попавший в организм AFM1 также может нарушать врожденный иммунитет, вызывая снижение уровня компонентов молока [23]. В ходе исследований в образцах молока были обнаружены пониженные уровни белка, жира и ОНФ, а также фальсификаты молока (формалин, тростниковый сахар, перекись водорода и мочевина) [24, 25]. В литературе имеется ряд предыдущих отчетов о распространенности AFM1 в молочных продуктах в Турции [19, 26, 27]. Тем не менее, нет отчетов с особым акцентом на использовании связывающих токсины веществ на основе глины в рационе коров. В литературе есть несколько сообщений о деградации

микотоксинов в кормах с помощью эффективных биологических, химических или физических средств [28].

Показатели жира, обезжиренных сухих веществ и белка значительно повысились (P<0,05) после использования адсорбента на основе глины. Эти показатели молока являются важным компонентом в питании человека благодаря функциональным свойствам и питательной ценности молока [29]. Ullah et al. (2016) сообщили, что рационы с добавлением деактиватора микотоксинов значительно улучшили потребление корма, производство молока и содержание молочного белка у коров, пораженных микотоксинами [30]. В заключение следует отметить, что AFM1 был обнаружен в молоке крупного рогатого скота, произведенном на местных предприятиях в провинциях Бурса и Агры. Молочные коровы. подвержены большему риску заражения AFM1 в зимние месяцы. Ежедневное применение препарата для связывания микотоксинов на основе глины может помочь эффективно решить эту проблему и привести к производству безопасного и здорового молока. Обучение фермеров правильной практике кормления и использованию добавок на основе глины может способствовать распространению этой ценной информации с помощью информационно-просветительских мероприятий.

AFLATOXIN M1 CONTENT IN MILK FROM LOCAL DAIRIES IN TURKEY: MILK QUALITY AND CLAY -BASED TOXIN BINDING EFFICIENCY

Yilmaz D. A. * – Physiologist, Research Assistant Faculty of Health Sciences (ORCID 0000-0001-8096-5504).

Agri Ibrahim Cecen University

*alper96@outlook.com

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the concentration of aflatoxin M1 (AFM1) in milk from Holstein-Friesian cows on local farms located in two different cities in Turkey, to investigate the effect of this mycotoxin on milk quality and seasonal variation, and to investigate the efficacy of a commercial clay-based binder. As part of the study, milk samples from 144 dairy cows were analyzed for the presence of AFM1 prior to the use of a clay-based toxin binder. As a result of this analysis, 26.9% of milk samples from individual animals had AFM1 levels exceeding the U.S. permissible limit of 0.5 μg/kg. In addition, AFM1 was detected in 36.5% of winter and 18.6% of summer milk samples. The presence of AFM1 caused a decrease in milk fat, dry matter, and protein levels. The affected animals were further divided into two groups: control group (n = 14) and experimental group (n = 26). The animals of the experimental group were fed 25 g/animal of clay-based binder toxin daily. The treatment group showed a gradual decrease in AFM1 levels by 24.4% on day 4 and 48.9% on day 7. In addition, the fat, non-fat solids, and protein content of milk increased significantly. As a result, a high level of AFM1 contamination in milk was detected, which can be assumed to negatively affect the quality of milk production. The use of clay-based toxin binders may be an effective method to improve milk quality and protect animal and consumer health.

REFERENCES

1.Li C, Liu X, Wu J, Ji X, Xu Q. Research progress in toxicological effects and mechanism of aflatoxin B(1) toxin. PeerJ. 2022;10:e13850.

2.Wang L, Huang Q, Wu J, Wu W, Jiang J, Yan H, et al. The metabolism and biotransformation of AFB1: Key enzymes and pathways. Biochemical Pharmacology. 2022;199:115005.

3.Hamad GM, El-Makarem HSA, Allam MG, El Okle OS, El-Toukhy MI, Mehany T, et al. Evaluation of the Adsorption Efficacy of Bentonite on Aflatoxin M(1) Levels in Contaminated Milk. Toxins (Basel). 2023;15 (2).

4.Costamagna D, Gaggiotti M, Smulovitz A, Abdala A, Signorini M. Mycotoxin sequestering agent: Impact on health and perfor-

mance of dairy cows and efficacy in reducing AFM(1) residues in milk. Environ Toxicol Pharmacol. 2023;105:104349.
5.Kihal A, Rodríguez-Prado M, Calsamiglia S. A network meta-analysis on the efficacy of different mycotoxin binders to reduce aflatoxin M(1) in milk after aflatoxin B(1) challenge in dairy cows. J Dairy Sci. 2023;106(8):5379-87.
6.Kos J, Anić M, Radić B, Zadravec M, Janić Hajnal E, Pleadin J. Climate Change-A Global Threat Resulting in Increasing Mycotoxin Occurrence. Foods. 2023;12(14).
7.Zebib H, Abate D, Woldegiorgis AZ. Exposure and Health Risk Assessment of Aflatoxin M(1) in Raw Milk and Cottage Cheese in Adults in Ethiopia. Foods. 2023;12(4).
8.Cherkani-Hassani A, Ghanname I, Zinedine A, Sefrioui H, Qmichou Z, Mouane N. Aflatoxin M1 prevalence in breast milk in Morocco: Associated factors and health risk assessment of newborns "CONTAMILK study". Toxicon. 2020;187:203-8.
9.Karaoglan H, Yanik E, Tunc N. Ülkemizde ve dünyada süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M1 varlığı. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 2022;53(1):81-7.
10.Jenkins TP, Fryer T, Dehli RI, Jürgensen JA, Fuglsang-Madsen A, Føns S, et al. Toxin Neutralization Using Alternative Binding Proteins. Toxins (Basel). 2019;11(1).
11.Kihal A, Rodriguez-Prado M, Godoy C, Cristofol C, Calsamiglia S. In vitro assessment of the capacity of certain mycotoxin binders to adsorb some amino acids and water-soluble vitamins. J Dairy Sci. 2020;103 (4):3125-32.
12.Duman Aydin B, Celik A, Guran H. İnek ve Anadolu Manda Çiğ Sütlerinde Aflatoksin M1 Düzeyinin Belirlenmesi. Firat Universitesi Saglik Bilimleri Veteriner Dergisi. 2023;37(1).
13.Chaisri W, Mongkon W, Sugita-Konishi Y, Van Dam D, Huntley I, Suriyasathaporn W. 小規模酪農農家における飼料および飼料管理が牛乳中のアフラトキシンM₁に与える影響. マイコトキシン. 2017;67(2):85-8.
14.Kalansooriya B, Bandara R, Herath H. Effect of Two Types of Total Mixed Rations on Production Performances of Holstein Friesian Cows in Early Lactation. Iranian Journal of Applied Animal Science. 2021;11 (2):271-8.
15.Kortei NK, Annan T, Kyei-Baffour V, Essuman EK, Boakye AA, Tettey CO, et al. Exposure assessment and cancer risk characterization of aflatoxin M(1) (AFM(1)) through ingestion of raw cow milk in southern Ghana. Toxicol Rep. 2022;9:1189-97.
16.Marchese S, Polo A, Ariano A, Velotto S, Costantini S, Severino L. Aflatoxin B1 and M1: Biological Properties and Their Involvement in Cancer Development. Toxins (Basel). 2018;10(6).
17.Oruç HH, Temelli S, Sorucu A. Bursa'da çiğ süt ve UHT sütlerde aflatoksin M1 düzeyleri. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2011;30(2):1-4.
18.Buldu H, Koc AN, URAZ G. Aflatoxin M1 contamination in cow's milk in Kayseri (central Turkey). Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences. 2011;35(2):87-91.
19.Özbey F, Yikici E, Kabak B. Seasonal variation of aflatoxin M 1 level in cow milk from Turkey. Journal of Food Safety & Food Quality/Archiv für Lebensmittelhygiene. 2023;74(5).
20.Kuboka M, Njue L, Mutua F, Grace D, Lindahl J. AFM1 Secretion and Efficacy of NovasilTM Clay in Kenyan Dairy Cows. Dairy. 2022;3(2):220-32.
21.Soufiani GN, Razmara M, Kermanshahi H, Velázquez AB, Daneshmand A. Assessment of aflatoxin B1 adsorption efficacy of natural and processed bentonites: In vitro and in vivo assays. Applied Clay Science. 2016;123:129-33.
22.Ajmal M, Bedale W, Akram A, Yu JH. Comprehensive Review of Aflatoxin Contamination, Impact on Health and Food Security, and Management Strategies in Pakistan. Toxins (Basel). 2022;14(12).
23.Shirani K, Zanjani BR, Mahmoudi M, Jafarian AH, Hassani FV, Giesy JP, et al. Immunotoxicity of aflatoxin M(1) : as a potent suppressor of innate and acquired immune systems in a subacute study. J Sci Food Agric. 2018;98(15):5884-92.
24.Queiroz OC, Han JH, Staples CR, Adesogan AT. Effect of adding a mycotoxin-sequestering agent on milk aflatoxin M_1 con-

centration and the performance and immune response of dairy cattle fed an aflatoxin B_1-contaminated diet. J Dairy Sci. 2012;95 (10):5901-8.
25.Ogunade IM, Arriola KG, Jiang Y, Driver JP, Staples CR, Adesogan AT. Effects of 3 sequestering agents on milk aflatoxin M1 concentration and the performance and immune status of dairy cows fed diets artificially contaminated with aflatoxin B1. J Dairy Sci. 2016;99(8):6263-73.
26.Oruç HH. Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M1 (AFM1) ve Türkiye'deki durumu. Uludag Univ J Fac Vet Med. 2003;22:121-5.
27.Unusan N. Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk in Turkey. Food and Chemical Toxicology. 2006;44(11):1897-900.
28.Afsah-Hejri L, Hajeb P, Ehsani RJ. Application of ozone for degradation of mycotoxins in food: A review. Compr Rev Food Sci Food Saf. 2020;19(4):1777-808.
29.Kumar A, Kaur A, Tomer V, Rasane P, Gupta K. Development of nutricereals and milk-based beverage: Process optimization and validation of improved nutritional properties. Journal of Food Process Engineering. 2020;43(1):e13025.
30.Ullah HA, Durrani AZ, Ijaz M, Javeed A, Sadique U, Hassan ZU, et al. Dietary mycotoxins binders: A strategy to reduce aflatoxin m1 residues and improve milk quality of lactating Beetal goats. Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit. 2016;11:305-9.

УДК: 619: 577.118: 636.5.03
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.142

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ХЕЛАТНЫХ СОЕДИНЕНИЙ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ НА ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МЯСА ПЕРЕПЕЛОВ

Лазарева М.В. [1]* – канд. ветеринар. наук, доц., зав. кафедрой анатомии и физиологии; **Шкиль Н.А.** [1,2] – д-р ветеринар. наук, проф., проф. кафедры микробиологии и гигиены животных[1], гл. науч. сотруд.[2]

[1] ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный аграрный университет»
[2] Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН

*Lazareva7@mail.ru

***Ключевые слова**: перепел, хелатные соединения, химический состав мяса, Биоферрон, Биоцинк.*

***Keywords**: quail, chelate compounds, chemical composition of meat, Bioferron, Biocinc.*

Поступила: 11.01.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Обосновано положительное влияние хелатных соединений микроэлементов на химический состав мяса перепелов. В опыте были использованы перепела японской породы, яично-мясного направления в количестве 280 голов. Включение в рацион перепелов хелатных соединений железа и цинка обеспечивает положительную коррекцию физико-химических показателей мясного сырья. Наибольший эффект отмечали при введении в рацион препарата Биоферрон в дозе 0,2 мл/кг: у 37-суточных перепелов уровень сырого протеина в мясе превышал контрольные значения на 1,33% (при $p \leq 0,01$), уровень сырой золы – на 0,41%; у 98-суточных перепелов уровень сырого протеина мясного сырья повысился на 1,08%, а относительно контрольной группы – на 1,92% (при $p \leq 0,001$), уровень сырой золы мясного сырья повысился на 2,85%, а относительно контрольной группы – на 1,54% (при $p \leq 0,01$). В образцах мясного сырья перепелов, которые получали Биоцинк, наиболее эффективной дозой отмечали 0,2 мл/кг: уровень сырого протеина в мясе у 37-суточных перепелов превышал контроль на 0,78%, уровень сырой золы – на 0,27%; у 98-суточных перепелов уровень сырого протеина мясного сырья повысился на 0,85%, а относительно контрольной группы – на 1,14% (при $p \leq 0,01$), уровень сырой золы повысился на 3,45%, а относительно контрольной группы – на 2,00% (при $p \leq 0,01$). Наибольший уровень содержания в мясном сырье перепелов среди элементов был у железа, цинка и марганца. Наибольшее количество усвоенного марганца в мышцах 37-суточных перепелов отмечено в образце 5-й опытной группы (Биоцинк 0,2 мл/кг) – на 324,69% ($p \leq 0,01$) больше контрольного. У 98-суточных перепелов наибольший уровень накопления марганца отмечен также в образце 5-й опытной группы (Биоцинк 0,2 мл/кг) – на 306,25% ($p \leq 0,001$) больше контрольного. У 37-суточных перепелов наибольшую концентрацию железа в мясном сырье (60,59±0,66 мг/кг при $p \leq 0,001$) выявили при включении в рацион препарата Биоферрон в дозе 0,3 мл/

кг, что больше контроля на 156,63%. У 98-суточных – 63,32±1,23 мг/кг (p≤0,001), что больше контроля на 213,93%. Наибольший уровень цинка отмечали в группах 37-суточных перепелов, в рацион которых был включен препарат Биоцинк в дозах 0,2 и 0,3 мл/кг, он составил 43,30±0,95 и 44,49±1,41 мг/кг при p≤0,001, что больше, чем в контрольной группе на 113,41 и 119,27% соответственно.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В настоящее время, наряду с увеличением производства мяса птицы, важной проблемой является улучшение его качества. Одними из показателей качества мяса является его физико-химические свойства, которые характеризуют технологические и вкусовые свойства. Л. У. Войцеховская с соавт. (2022 г.) отметили, что мясное сырье индеек и перепелов сбалансировано по аминокислотному и жирнокислотному составу, богато полноценным и легкодоступным белком, что позволяет использовать его в составе функциональных продуктов [1]. И.Ю. Жидик с соавт. (2020 г.) считают, что одним из основополагающих факторов влияющих на продуктивность животных и качество продукции являются корма, которые обеспечивают птицу обменной энергией, минералами и другими биологически активными веществами, отвечающие за целый ряд функций и обеспечивающие обменные процессы [2].

Основным источником микроэлементов для животных являются корма, минеральный состав которых, подвержен значительным колебаниям и зависит от многих факторов (почвы, вида растений, фазы заготовки, уровня внесения минеральных удобрений, климатических условий) [3]. Многими исследованиями [4, 5, 6, 7] установлено, что нередко в рационах животных наблюдается недостаток одних элементов и избыток других. Одновременно с этим известно, что минеральные вещества кормов усваиваются организмом лишь на 25-30%. В связи с этим, для повышения продуктивности и сохранности птицы исследователями предлагается большое количество биологически активных добавок (пробиотиков, пребиотиков, синбиотиков, фитобиотиков, антиоксидантов, хелатных соединений и др.) [8, 9, 10, 11]. Большое значение в кормлении перепелов имеют эссенциальные микроэлементы. К жизненно необходимым микроэлементам относят железо и цинк, при их отсутствии нарушаются базовые реакции деления и размножение клеток. Для профилактики минеральной недостаточности в организме птицы используют в основном препараты, содержащие неорганические формы цинка и железа, такие как сульфат, хлорид, оксид и др. Однако при низкой себестоимости они плохо усваиваются организмом. В этом направлении одной из задач научного поиска является повышение биодоступности микроэлементов [12, 13]. Введение органических форм микроэлементов в рацион улучшает обмен веществ у птицы, способствует повышению минерального состава в организме, стимулирует гемопоэз, не изменяя стабильности кроветворения и постоянства в её составе [14, 15, 16].

Цель исследований – изучить влияние хелатных соединений микроэлементов на химический состав мяса перепелов в эксперименте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Работа выполнена в 2020-2022 гг. на кафедре акушерства, анатомии и гистологии факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный аграрный университет». Отдельные исследования проводили на базе СФНЦА РАН. В опыте использовали перепелов японской породы, яично-мясного направления в количестве 280 голов. Было сформировано 7 групп по 40 перепелов в каждой, суточного возраста. Перепелов контрольной группы кормили основным рационом (ОР), разработанным сотрудниками СФНЦА РАН, включающим зерновые и бобовые культуры. В 1-й, 2-й и 3-й опытных группах к основному рациону добавляли препарат Биоферрон в дозах 0,1, 0,2 и 0,3 мл/кг массы тела 1 раз в сутки в течение 21 дня, повторный курс через 45 дней. В 4-й, 5-й и 6-й опытных

группах к основному рациону добавляли препарат Биоцинк в дозах 0,1, 0,2 и 0,3 мл/кг массы тела 1 раз в сутки в течение 21 дня, повторный курс через 45 дней. Выведение животных из эксперимента провели в 37-суточном и 98-суточном возрасте. Препараты Биоферрон и Биоцинк представляют собой водный раствор биологически активных веществ (не менее 5%), в состав которых входит органическое железо и органический цинк в форме хелатов и карбоксилатов (1000 мг/л), являющиеся естественным биосовместимым стимулятором гемопоэза.

Лабораторные исследования образцов мясного сырья проводили в лаборатории биохимии СФНЦА РАН. Для определение массовой доли влаги использовали метод высушивания в сушильном шкафу при температуре 103±2^{0}С (ГОСТ 31640-2012), для определение массовой доли белка использовали метод Кьельдаля (ГОСТ 25011-2017), для определения сырой золы –метод термической деминерализации обезвоженного и обезжиренного образца при температуре 500-650^{0}С (ГОСТ 26226-95). Массовую долю сырого жира определяли по обезжиренному остатку в аппарате Сокслета (ГОСТ 13496.15). Определение макро- и микроэлементов вели методом атомно-абсорбционной спектроскопии (ГОСТ 26570-95, ГОСТ 26657-97, ГОСТ 32343-2013).

Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи программных пакетов Excel MS Office-2016 и Past 4.03 (SPSS 22.0). Полученные выборки проверяли на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения признака данные представляли в виде M±Sd (где M — среднее значение, Sd — стандартное отклонение); сравнения производили с использованием t-критерия Стьюдента для непарных выборок. В случае ненормального распределения выборки использовали U-критерий Манна–Уитни с поправкой Бонферрони. Статистически значимыми считали различия при p≤0,05 (А.Н. Наркевич с соавт., 2020).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате изучения физико-химических показателей мяса перепелов 37-суточного возраста выявили наибольший уровень воды в мясе у перепелов контрольной группы (77,04±0,17%) (табл. 1). Среди образцов мясного сырья перепелов опытных групп наименьший уровень влажности отмечали во 2-ой опытной группе (Биоферрон 0,2 мл/кг), который составил 74,22±1,46% (при p≤0,05), что ниже на 2,82%, чем в контрольной группе. В 1-ой опытной группе при включении в рацион препарата Биоферрон в дозе 0,1 мл/кг уровень влажности составил на 0,20% ниже, чем в контрольной. В 3-ей опытной группе (Биоферрон 0,3 мл/кг) – на 2,52% меньше контроля. Среди групп перепелов, в рацион которых был включен препарат Биоцинк в дозах 0,1, 0,2 и 0,3 мл/кг, уровень влажности мясного сырья составил на 0,98, 1,51 и 1,46% ниже, чем в контрольной группе соответственно.

Самым важным показателем, характеризующим качество мяса, является содержание в нем белка. Из таблицы 1 видно, что значения содержания сырого протеина в мясе птицы колеблются. Так в образцах мясного сырья перепелов опытных групп, которым давали препарат Биоферрон в дозах 0,1, 0,2 и 0,3 мл/кг, уровень сырого протеина превышал на 0,09, 1,33 и 1,32% (при p≤0,01) уровня контрольной группы соответственно. В образцах мясного сырья перепелов, которые получали Биоцинк в дозах 0,1, 0,2 и 0,3 мл/кг, уровень сырого протеина превышал на 0,37, 0,78 и 0,80% уровня контрольной группы соответственно. Таким образом, повышение уровня сырого протеина в образцах мяса перепелов опытных групп указывает на положительное влияние включения в рацион хелатных комплексов железа и цинка.

Содержание жира в образцах мясного сырья перепелов находилось на уровне 1,22-2,41% и варьировалось незначительно. Наибольший уровень сырого жира отмечали в образцах 2-ой опытной группы (Биоферрон 0,2 мл/кг), он составил

2,41±0,54%, что выше уровня образцов контрольной группы на 1,07%. Наименьший уровень среди опытных групп отмечали в 1-ой опытной группе (Биоферрон 0,1 мл/кг), он составил 1,22±0,46%.

Средние показатели сырого жира отмечали в группах перепелов, которые получали препарат Биоцинк в дозах 0,1, 0,2 и 0,3 мл/кг – 1,79±0,34, 1,79±0,71 и 1,70±1,67%, что выше, чем в контрольной группе на 0,45, 0,45 и 0,36% соответственно. Несмотря на то, что достоверной разницы в содержании жира в мясе перепелов контрольной и опытных групп не установлено, просматривается тенденция увеличения этих показателей в мясе.

Легкодоступная форма Биоферрона и Биоцинка обусловила быстрое усвоения и использование элементов в организме перепелов, что способствовало повышению показателей пищевой ценности – количества белков и жиров.

Увеличение зольности в мясе перепелов было обусловлено увеличением минеральных компонентов за счет поступления с кормовыми добавками микроэлементов. Более высокая концентрация минеральных веществ в мясе перепелов, получавших хелатные комплексы микроэлементов, была достигнута за счет высокой степени усвоения их в виде органических соединений.

Среди образцов мясного сырья перепелов опытных групп наибольший уровень сырой золы отмечали в 3-ей опытной группе (Биоферрон 0,3 мл/кг), который составил 1,38±0,02% (при $p \leq 0,01$), что выше на 0,42%, чем в контрольной группе. Во 2-ой опытной группе при включении в рацион препарата Биоферрон в дозе 0,2 мл/кг уровень сырой золы составил на 0,41% выше, чем в контрольной. Среди групп перепелов, в рацион которых был включен препарат Биоцинк в дозах 0,1, 0,2 и 0,3 мл/кг, уровень сырой золы мясного сырья составил на 0,16, 0,27 и 0,30% выше, чем в контрольной группе соответственно.

В результате изучения химического состава мяса перепелов 98-суточного возраста выявили снижение уровня влажности, что закономерно, так как известно, что в мясе молодняка воды содержится больше, чем у взрослых животных. Количество влаги с возрастом у перепелов контрольной группы уменьшилось с 77,04±0,17% в возрасте 37 суток до 72,66±0,2278,6% в 98-дневном возрасте – на 4,38%. Это обусловлено естественными возрастными изменениями, происходящими в процессе взросления и старения организма. У перепелов опытных групп, которым в рацион был включен препарат Биоферрон в дозах 0,1; 0,2, и 0,3 мл/кг, уровень влажности мясного сырья снизился в возрасте 98 дней на 6,60; 5,26 и 5,46% (при $p \leq 0,001$) соответственно. Среди групп перепелов, которым в рацион был включен препарат Биоцинк в дозах 0,1; 0,2, и 0,3 мл/кг, уровень влажности мясного сырья снизился в возрасте 98 дней на 4,20; 6,24 (при $p \leq 0,001$) и 5,60% (при $p \leq 0,01$) соответственно. По нашему мнению, наиболее оптимальное значение снижение уровня влажности мясного сырья происходит у перепелов в опытных группах, что соответствует увеличению содержания в мясе массовой доли сухих веществ, что что обусловливает некоторое повышение пищевой ценности мясного сырья перепелов.

Повышение уровня сырого протеина отмечали во всех исследуемых группах перепелов. В контрольной группе данное значение повысилось на 0,49%. У перепелов опытных групп, в рацион которых был включен препарат Биоферрон в дозах 0,1; 0,2, и 0,3 мл/кг, уровень сырого протеина мясного сырья повысился в возрасте 98 дней на 0,77; 1,08 и 1,04%, а относительно контрольной группы – на 0,37; 1,92 и 1,87% (при $p \leq 0,001$) соответственно. Среди групп перепелов, которым в рацион был включен препарат Биоцинк в дозах 0,1; 0,2, и 0,3 мл/кг, уровень сырого протеина мясного сырья повысился в возрасте 98 дней на 0,64; 0,85 и 0,80%, а относительно контрольной группы – на 0,52; 1,14 и 1,11% (при $p \leq 0,01$) соответственно. Таким образом, включение в рацион хелатных соединений железа и цинка способствует возрастанию массо-

вой доли белка в мясном сырье перепелов, обеспечивая повышение биологической ценности его. При этом, препарат Биоферрон способствует наибольшему увеличению сырого протеина в мясном сырье перепелов.

Исследование выявило влияние включения в рацион препаратов Биоферрон и Биоцинк на содержание жира в образцах мясного сырья перепелов. Это согласуется с изменением влажности мясного сырья, так как известно, что содержание влаги всегда находится в обратной зависимости с массовой долей жира. В контрольной группе уровень сырого жира повысился на 4,19%. У перепелов опытных групп, в рацион которых был включен препарат Биоферрон в дозах 0,1; 0,2, и 0,3 мл/кг, уровень сырого жира мясного сырья повысился в возрасте 98 дней на 3,58; 2,31 и 2,72%, а относительно контрольной группы данный показатель отмечался ниже – на 0,73; 0,81 и 0,69% (при $p \leq 0,01$) соответственно. Среди групп перепелов, которым в рацион был включен препарат Биоцинк в дозах 0,1; 0,2, и 0,3 мл/кг, уровень сырого жира мясного сырья повысился в возрасте 98 дней на 2,91; 2,74 и 2,94%, а относительно контрольной группы данный показатель отмечался ниже – на 0,83; 1,00 и 0,89% (при $p \leq 0,01$) соответственно. Таким образом, с увеличением возраста отмечаем повышение уровня сырого жира в образцах мясного сырья перепелов, что повышает его калорийность и вкусовые качества. При этом отмечаем менее интенсивное отложение жира в образцах мяса перепелов опытных групп относительно контрольной, что связываем с повышением уровня сырого протеина в них.

Содержание сырой золы в исследуемых группах перепелов имело тенденцию к увеличению. В контрольной группе уровень сырой золы с 37-суточного до 98-суточного возраста перепелов повысился на 1,72%. У перепелов опытных групп, в рацион которых был включен препарат Биоферрон в дозах 0,1; 0,2, и 0,3 мл/кг, уровень сырой золы мясного сырья повысился в возрасте 98 дней на 2,20; 2,85 и 2,78%, а относительно контрольной группы данный показатель отмечался выше – на 0,71; 1,54 и 1,48% (при $p \leq 0,01$) соответственно. Среди групп перепелов, которым в рацион был включен препарат Биоцинк в дозах 0,1; 0,2, и 0,3 мл/кг, уровень сырой золы мясного сырья повысился в возрасте 98 дней на 1,53; 3,45 и 2,73%, а относительно контрольной группы данный показатель отмечался ниже в 4-ой опытной группе – на 0,03%, в 5 и 6 опытной – на 2,00 и 1,31% выше (при $p \leq 0,01$) соответственно. Таким образом, мы предполагаем, что включение в рацион перепелов хелатных соединений железа и цинка отразилось на минеральном составе мясного сырья, зольность повысилась.

Химический состав, взаимодействие белка, жира и влаги, которое характеризуется значениями их соотношений, непосредственно влияет на функционально-технологические свойства мясного сырья, его структуру, биологическую ценность и потребительские свойства. Спелость (зрелость) мяса определяется по соотношению жира и воды.

Качество мяса характеризуется соотношением протеина и жира. Пониженное отношение жира к белку в мясе перепелов опытных групп по сравнению с контролем позволяет использовать его при производстве продукции специализированного назначения, в том числе для детского, геродиетического и лечебно-профилактического питания.

У перепелов опытной группы массовая доля воды и белка была несколько выше, при меньшем их соотношении.

Минеральные компоненты зольного остатка в мясном сырье перепелов при применении препаратов Биоферрон и Биоцинк изменялись позитивно. Нами было определено содержание важнейших макроэлементов и микроэлементов (табл. 2). Особенно много в мышечной ткани содержится калия и фосфора. Значительная доля калия и кальция связана с белками. Взаимодействие калия, магния и кальция с актином, миозином и АТФ имеет важное значение в процессах сокращения и расслабления миофибрилл. В

мясном сырье 37-суточных перепелов, в рацион которых были добавлены препараты Биоферрон и Биоцинк в дозах 0,2 и 0,3 мл/кг, отмечали больший уровень калия в сравнении с контрольной группой. Во 2-й (Биоферрон 0,2 мл/кг) и 3-й (Биоферрон 0,3 мл/кг) опытных группах уровень калия составил 4,44±0,23 и 4,45±0,21 г/кг, что больше, чем в контрольной на 4,96 и 5,20% соответственно. В 5-й (Биоцинк 0,2 мл/кг) и 6-й (Биоцинк 0,3 мл/кг) опытных группах данный показатель составил 4,40±0,21 и 4,40±0,16 г/кг, что больше контроля на 4,02%. В группах, в которых перепела получали Биоферрон и Биоцинк в дозе 0,1 мл/кг, уровень калия оказался ниже прежних, он составил 4,25±0,24 и 4,24±0,24 г/кг, что больше контроля на 0,47 и 0,24% соответственно. Различия не значимы. У 98-суточных перепелов уровень калия в мясном сырье снижается, но сохраняется его преобладание в опытных группах. Наибольший уровень калия установили во второй (Биоферрон 0,2 мл/кг) и пятой (Биоцинк 0,2 мл/кг) опытных группах, он превышал контроль на 29,31 и 27,49% при $p \leq 0,05$ соответственно.

Значительное повышение кальция было отмечено в мышцах перепелов опытных групп. Показатели 2-й и 5-й опытных групп 37-суточных перепелов превысили на 57,28% контрольные значения при $p \leq 0,01$.

По содержанию кальция в мясном сырье 98-суточных перепелов достоверная разница между опытными и контрольной группами не установлена, но отмечается повышенный уровень данного показателя при включении препаратов Биоферрон и Биоцинк в дозах 0,2 мл/кг. Во 2-й опытной группе – 0,77±0,06 г/кг, что на 13,24% больше контроля, в 5-й – 0,76±0,08 г/кг, что на 11,76% больше контроля.

Выявлены изменения в содержании фосфора в мышечной ткани. По содержанию фосфора достоверная разница отмечена в 37-суточном возрасте. Наибольший уровень фосфора отмечали в группах, в рацион которых включили Биоферрон в дозе 0,2 и 0,3 мл/кг, он составил 2,64±0,6 ($p \leq 0,001$) и 2,64±0,08 ($p \leq 0,01$) г/кг соответственно, что на 38,22% выше, чем в контрольной группе. Наименьший уровень фосфора в мясе перепелов среди опытных групп отмечен в четвертой опытной группе (Биоцинк 0,1 мл/кг) – 2,21±0,18 г/кг, что на 15,71% выше, чем в контрольной группе. В 98-суточном возрасте перепелов прослеживается тенденция увеличения уровня фосфора в мясном сырье, что закономерно, так как установлено, что с возрастом во всех тканях увеличивается содержание общего фосфора, участвующего в формировании коллагена.

Так наибольший уровень – 2,68±0,09 г/кг ($p \leq 0,05$) во 2-й опытной группе (Биоферрон 0,2 мл/кг), что на 24,65% выше значения контроля. Наименьший – 2,33±0,10 г/кг в 4-й опытной группе (Биоцинк 0,1 мл/кг), что на 8,37% выше, чем в контроле.

Отмечено незначительное повышение содержания натрия в мышечной ткани перепелов опытных групп. У 37-суточных перепелов наибольшее значение уровня натрия в мясном сырье отмечали в 5-й опытной группе (Биоцинк 0,2 мл/кг), он составил 0,59±0,04 г/кг ($p \leq 0,05$), что на 34,09% больше контрольного значения. Наименьший (0,46±0,02 г/кг) в 1-й опытной группе (Биоферрон 0,1 мл/кг), что на 4,55% больше, чем в контрольной группе. У 98-суточных перепелов наибольшее значение уровня натрия в мясном сырье отмечали так же в 5-й опытной группе (Биоцинк 0,2 мл/кг), он составил 0,57±0,05 г/кг, что на 35,71% больше контрольного значения. Наименьший (0,43±0,04 г/кг) в 1-й опытной группе (Биоферрон 0,1 мл/кг), что на 2,38% больше, чем в контрольной группе.

Железо входит в состав миоглобина. Изменения в сторону увеличения минеральных веществ в мышечной ткани перепелов происходили под воздействием хелатного соединения железа, которое влияло на усиление процессов усвоения питательных веществ рационов.

Таблица 1 – Показатели химического состава мяса перепелов в разные возрастные периоды

Показатели	Возраст, сутки / кол-во голов	Группа						
		контрольная (ОР) n=40	1 опытная, (ОР + Биофер-рон 0,1 мл/кг) n=40	2 опытная, (ОР + Биофер-рон 0,2 мл/кг) n=40	3 опытная, (ОР + Биофер-рон 0,3 мл/кг) n=40	4 опытная, (ОР + Биоцинк 0,1 мл/кг) n=40	5 опытная, (ОР + Биоцинк 0,2 мл/кг) n=40	6 опытная, (ОР + Биоцинк 0,3 мл/кг) n=40
Влажность, %	37/ n=10	77,04±0,17	76,84±3,41	74,22±1,46*	74,52±2,77	76,06±2,34	75,53±2,86	75,58±2,63
	98/ n=10	72,66±0,22 +++	70,24±0,44***	68,96±0,53***	69,06±0,76***	71,86±0,29	69,29±0,59***	69,98±0,66**
Сырой протеин, %	37/ n=10	20,66±0,09	20,75±0,13	21,99±0,26**	21,98±0,29**	21,03±0,41	21,44±0,37	21,46±0,34
	98/ n=10	21,15±0,19	21,52±0,29	23,07±0,26***	23,02±0,29***	21,67±0,40	22,29±0,28**	22,26±0,14**
Сырой жир, %	37/ n=10	1,34±0,28	1,22±0,46	2,41±0,54	2,12±0,19	1,79±0,34	1,79±0,71	1,70±1,67
	98/ n=10	5,53±0,11	4,80±0,21*	4,72±0,20**	4,84±0,21**	4,70±0,23**	4,53±0,22***	4,64±0,22**
Сырая зола, %	37/ n=10	0,96±0,09	1,19±0,04	1,37±0,05**	1,38±0,02**	1,12±0,09	1,23±0,05	1,26±0,05*
	98 n=10	2,68±0,17	3,39±0,48	4,22±0,42**	4,16±0,49**	2,65±0,26	4,68±0,50**	3,99±0,30***
Жир: Влага	37 n=10	1 : 57,55	1 : 63,14	1 : 30,73	1 : 35,13	1 : 42,51	1 : 42,06	1 : 44,39
	98 n=10	1 : 13,14	1 : 14,62	1 : 14,62	1 : 14,28	1 : 15,28	1 : 15,31	1 : 15,08
Жир: Белок	37 n=10	1 : 15,43	1 : 17,05	1 : 9,11	1 : 10,36	1 : 11,76	1 : 11,94	1 : 12,60
	98/ n=10	1 : 3,82	1 : 4,48	1 : 4,89	1 : 4,76	1 : 4,61	1 : 4,92	1 : 4,79
Влага: Белок	37/ n=10	3,73 : 1	3,70 : 1	3,37 : 1	3,39 : 1	3,62 : 1	3,52 : 1	3,52 : 1
	98/ n=10	3,44 : 1	3,26 : 1	2,99 : 1	3,00 : 1	3,32 : 1	3,11 : 1	3,14 : 1

Примечание: * - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$ относительно контрольной группы
+ - $p \leq 0,05$; ++ - $p \leq 0,01$; +++ - $p \leq 0,001$ относительно 37-ми суточного возраста
ОР – основной рацион, сбалансированный по нормам ВНИИТИП (2003).

Таблица 2 – Минеральный состав мясного сырья перепелов

Показатели	Возраст, сутки / кол-во голов	Группа						
		контрольная (ОР) n=40	1 опытная, (ОР + Биоферрон 0,1 мл/кг) n=40	2 опытная, (ОР + Биоферрон 0,2 мл/кг) n=40	3 опытная, (ОР + Биоферрон 0,3 мл/кг) n=40	4 опытная, (ОР + Биоцинк 0,1 мл/кг) n=40	5 опытная, (ОР + Биоцинк 0,2 мл/кг) n=40	6 опытная, (ОР + Биоцинк 0,3 мл/кг) n=40
Кальций, г/кг	37/ n=10	1,03±0,11	1,37±0,09	1,62±0,08**	1,60±0,08**	1,57±0,09**	1,62±0,09**	1,61±0,10**
	98/ n=10	0,68±0,05	0,74±0,06	0,77±0,06	0,76±0,07	0,72±0,05	0,76±0,08	0,75±0,05
Фосфор, г/кг	37/ n=10	1,91±0,13	2,23±0,17	2,64±0,6***	2,64±0,08**	2,21±0,18	2,58±0,11**	2,59±0,13**
	98/ n=10	2,15±0,14	2,37±0,15	2,68±0,09*	2,67±0,09*	2,33±0,10	2,61±0,09*	2,61±0,10*
Калий, г/кг	37/ n=10	4,23±0,22	4,25±0,24	4,44±0,23	4,45±0,21	4,24±0,24	4,40±0,21	4,40±0,16
	98/ n=10	3,31±0,23	4,06±0,26*	4,28±0,15*	4,26±0,24*	4,04±0,16*	4,22±0,18*	4,20±0,23*
Натрий, г/кг	37/ n=10	0,44±0,04	0,46±0,02	0,57±0,05*	0,56±0,04	0,49±0,04	0,59±0,04*	0,58±0,06
	98/ n=10	0,42±0,04	0,43±0,04	0,55±0,06	0,55±0,04*	0,45±0,04	0,57±0,05	0,56±0,05
Железо, мг/кг	37/ n=10	23,61±1,35	41,24±2,49***	59,12±0,99***	60,59±0,66***	32,99±1,27***	38,53±1,35***	37,48±2,42***
	98/ n=10	20,17±0,49	48,26±1,24***	62,69±1,06***	63,32±1,23***	29,91±0,94***	35,45±1,59***	33,44±1,65***
Марганец, мг/кг	37/ n=10	0,81±0,07	1,25±0,12**	1,67±0,19**	1,66±0,16***	2,63±0,15***	3,44±0,20***	3,37±0,15***
	98/ n=10	0,80±0,12	1,12±0,13*	1,58±0,13**	1,58±0,24*	2,14±0,19***	3,25±0,21***	3,21±0,24***
Медь, мг/кг	37/ n=10	0,42±0,02	0,57±0,06	0,62±0,04**	0,63±0,05**	0,41±0,03	0,39±0.04	0,39±0,04
	98/ n=10	0,40±0,02	0,52±0,04**	0,61±0,04*	0,61±0,07**	0,38±0,03	0,37±0,04	0,36±0,02
Цинк, мг/кг	37/ n=10	20,29±0,58	21,74±1,23	25,67±0,85***	25,89±1,01***	33,94±1,47***	43,30±0,95***	44,49±1,41***
	98/ n=10	19,48±0,43	21,18±0,91	24,76±1,07***	25,13±1,22**	33,67±2,34***	44,87±1,06***	44,05±1,42***

Примечание: * - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$ относительно контрольной группы
ОР – основной рацион, сбалансированный по нормам ВНИИТИП (2003).

Перепела, получавшие препарат Биоферрон в дозах 0,2 и 0,3 мл/кг, в возрасте 37 суток имели наибольшую концентрацию железа в мясном сырье – 59,12±0,99 и 60,59±0,66 мг/кг при p≤0,001, что больше контроля на 150,40 и 156,63% соответственно. Среди перепелов опытных групп, получавших препарат Биоцинк в различных дозах, уровень железа был ниже, но превосходил значение контрольной группы. Так в 5-й опытной группе его уровень составил 38,53±1,35 (p≤0,001) мг/кг, что выше контроля на 63,19%. По достижении перепелами 98 суток уровень железа в мясном сырье в группах, в рационе которых присутствовал Биоферрон, нарастал. Наибольший уровень был отмечен во 2-й и 3-й опытных группах (Биоферрон 0,2 и 0,3 мл/кг) – 62,69±1,06 и 63,32±1,23 мг/кг при p≤0,001, что больше контроля на 210,81 и 213,93% соответственно. В остальных испытуемых группах у перепелов по достижению 98 суток отмечалось снижение содержания железа в мясном сырье, но при этом уровень железа поддерживался в диапазоне физиологической нормы.

Накопление цинка в мясном сырье перепелов при влиянии хелатных соединений микроэлементов и с возрастом происходило неодинаково. Наибольший уровень цинка отмечали в группах 37-суточных перепелов, в рацион которых был включен препарат Биоцинк в дозах 0,1, 0,2 и 0,3 мл/кг, он составил 33,94±1,47, 43,30±0,95 и 44,49±1,41 мг/кг при p≤0,001, что больше, чем в контрольной группе на 67,27, 113,41 и 119,27% соответственно. При достижении перепелов этих же групп 98 суток показатель цинка в мясе сохранялся на том же уровне. Среди групп перепелов, в рацион которых был включен Биоферрон в различных дозах, уровень цинка был ниже, но превосходил показатели контрольной группы. Так наибольший уровень отмечали в третьей опытной группе (Биоферрон 0,3 мл/кг) – 25,89±1,01 (p≤0,001) мг/кг в 37-суточном возрасте и 25,13±1,22 (p≤0,01) мг/кг в 98-суточном возрасте перепелов, что больше, чем в контрольной группе на 27,59 и 29,00% соответственно.

Цинк снижает всасывание меди. Недостаток меди проявляется в расстройствах функции пищеварения: поносах, потере аппетита, истощении. Развивается анемия. В мясном сырье перепелов испытуемых групп уровень меди находился в пределах физиологической нормы, но в группах с включением хелатных соединений железа отмечали его превосходство. Наибольший уровень был во 2-й и 3-й опытных группах 37-суточных перепелов (Биоферрон 0,2 и 0,3 мл/кг) – 0,62±0,04 и 0,63±0,05 мг/кг при p≤0,01, что больше, чем у перепелов контрольной группы на 47,62 и 50,00% соответственно. В мясе 98 -суточных перепелов уровень меди сохранялся. В группах перепелов, в рацион которых включали препарат Биоцинк в различных дозах, отмечали более низкий уровень меди, чем в других группах. У 37 -суточных перепелов наименьший уровень меди составил в группе с Биоцинком в дозе 0,3 мл/кг (0,39±0,04 мг/кг), что меньше контроля на 7,14% и меньше, чем в 3-й опытной группе (Биоферрон 0,3 мл/кг) на 38,09%. У 98-суточных перепелов наименьший уровень меди составил в группе с Биоцинком в дозе 0,3 мл/кг (0,36±0,02 мг/кг), что меньше контроля на 10,00% и меньше, чем в 3-й опытной группе (Биоферрон 0,3 мл/кг) на 40,98%.

Наибольшее количество усвоенного марганца в мышцах 37-суточных перепелов отмечено в образце 5-й опытной группы (Биоцинк 0,2 мл/кг) – на 324,69% (p≤0,001) больше контрольного, тогда как наименьшая его доля – в образце 1-й опытной группы (Биоферрон 0,1 мл/кг) – на 54,32% (p≤0,01). У 98-суточных перепелов наибольший уровень накопления марганца отмечен также в образце 5-й опытной группы (Биоцинк 0,2 мл/кг) – на 306,25% (p≤0,001) больше контрольного, тогда как наименьшая его доля – в образце 1-й опытной группы (Биоферрон 0,1 мл/кг) – на 40,00% (p≤0,05).

Изменения в сторону как увеличения, так и уменьшения минеральных веществ в мышечной ткани перепелов происходи-

ли под воздействием хелатных соединений железа и цинка, которые влияли на усиление процессов усвоения питательных веществ рационов. Таким образом, включение в рацион перепелов хелатных соединений микроэлементов положительно влияет на накопление элементов в мясном сырье и вносит коррективы в элементный статус тканей организма. Высокое содержание макро- и микроэлементов свидетельствует о его высокой биологической ценности.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Включение в рацион перепелов хелатных соединений микроэлементов обеспечивает положительную коррекцию физико-химических показателей мясного сырья. Наибольший эффект отмечали при введении в рацион препарата Биоферрон в дозе 0,2 мл/кг: у 37-суточных перепелов уровень сырого протеина в мясе превышал контрольные значения на 1,33% (при $p \leq 0,01$), уровень сырой золы – на 0,41%; у 98-суточных перепелов уровень сырого протеина мясного сырья повысился на 1,08%, а относительно контрольной группы – на 1,92% (при $p \leq 0,001$), уровень сырой золы мясного сырья повысился на 2,85%, а относительно контрольной группы – на 1,54% (при $p \leq 0,01$).

В образцах мясного сырья перепелов, которые получали Биоцинк, наиболее эффективной дозой отмечали 0,2 мл/кг: уровень сырого протеина в мясе у 37-суточных перепелов превышал контроль на 0,78%, уровень сырой золы – на 0,27%; у 98-суточных перепелов уровень сырого протеина мясного сырья повысился на 0,85%, а относительно контрольной группы – на 1,14% (при $p \leq 0,01$), уровень сырой золы повысился на 3,45%, а относительно контрольной группы – на 2,00% (при $p \leq 0,01$).

Препараты Биоферрон и Биоцинк, в составе которых помимо органических форм железа и цинка, присутствуют аминокислоты, витамины и биофлавоноиды, позитивно влияют на процессы метаболизма минералов в организме, что выражается в изменении содержания минеральных веществ в мышечной ткани перепелов.

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF THE EFFECT OF CHELATED COMPOUNDS OF TRACE ELEMENTS ON THE CHEMICAL COMPOSITION OF QUAIL MEAT

Lazareva M.V.[1] – edging. veterinarian. sciences, associate professor, head of Anatomy and physiology; **Shkil H.A.**[1,2] – Dr. Vet. sciences, professor, Professor Department of microbiology and animal hygiene[1], chief scientist[2].

[1]Novosibirsk State Agrarian University

[2]Sibirsky Federal Scientific Center of Agrobiotechnologies of the Russian Academy of Sciences

*Lazareva7@mail.ru

ABSTRACT

The positive effect of chelate compounds of trace elements on the chemical composition of quail meat is justified. The experience used quails of the Japanese breed, egg-meat direction in the amount of 280 heads. Inclusion of chelate compounds of iron and zinc in the diet of quails provides positive correction of physical and chemical indices of meat raw materials. The greatest effect was noted when Bioferron 0,2 ml/kg was introduced into the diet: in 37-day quails, the level of raw protein in meat exceeded the control values by 1,33% (at $p \leq 0,01$), the level of raw ash - by 0,41%; in 98-day quails, the level of raw meat protein increased by 1,08%, and relative to the control group - by 1,92% (at $p \leq 0,001$), the level of raw meat ash increased by 2,85%, and relative to the control group - by 1,54% (at $p \leq 0,01$). In samples of meat raw materials of quail, which received Biocinc, 0,2 ml/kg was noted as the most effective dose: the level of raw protein in meat in 37-day quail exceeded the control by 0,78%, the level of raw ash - by 0,27%; in 98-day quails, the level of raw meat protein increased by 0,85%, and relative to the control group - by 1,14% (at $p \leq 0,01$), the level of raw ash increased by 3,45%, and relative to the control group - by 2,00% (at $p \leq 0,01$). The highest level of quail in meat raw materials among the elements

was in iron, zinc and manganese. The largest amount of digested manganese in the muscles of 37-day quail was noted in a sample of the 5th experimental group (Biocinc 0,2 ml/kg) – 324,69% (p≤0,001) more than the control. In 98-day quails, the highest level of manganese accumulation was also noted in the sample of the 5th experimental group (Biocinc 0,2 mL/kg) – 306,25% (p≤0,001) more than the control one. In 37-day quails, the highest concentration of iron in meat raw materials (60,59±0,66 mg/kg at p≤0,001) was detected when Bioferron was included in the diet at a dose of 0,3 mL/kg, which is 156,63% more than the control. 98-day - 63,32±1,23 mg/kg (p≤0,001), which is 213,93% more than the control. The highest level of zinc was observed in the groups of 37-day quail, the diet of which included Biocinc at doses of 0,2 and 0,3 ml/kg, it was 43,30±0,95 and 44,49±1,41 mg/kg at p≤0,001, which is more than in the control group by 113,41 and 119,27%, respectively.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Нутриентная адекватность как критерий выбора мясного сырья для функциональных продуктов / Л.У. Войцеховская, С.Б. Вербицкий, Е.В. Франко [и др.] // Аграрная наука-сельскому хозяйству. – 2022. – С. 101-103.
2. Жидик, И.Ю. Органолептическая и микробиологическая оценка мяса перепелов породы фараон при включении в рацион минеральной добавки «вермикулит» / И.Ю. Жидик, А.А. Баранова // Актуальные проблемы ветеринарной науки и практики : Материалы национальной научно-практической онлайн-конференции факультета ветеринарной медицины ИВМиБ ФГБОУ ВО Омский ГАУ, Омск, 13 ноября 2020 года. – Омск: ФГБОУ ВО Омский ГАУ, 2020. – С. 113-116.
3. Шамко, В.В. Роль микроэлементов и их хелатных форм в нормализации обмена веществ / В.В. Шамко, В.А. Люндышев // Научные основы развития АПК. – 2022. – С. 222-226.
4. Сахно, О.Н. Эффективность промышленного выращивания цыплят-бройлеров с применением препаратов «Апекс» и «Эмицидин» / О.Н. Сахно, В.С. Буяров // Аграрный вестник Верхневолжья. 2018. – № 3 (24). – С. 114-123.
5. Мерфи Р. Микроэлементы, корма и недостаток элементов в рационе / Р. Мерфи // Животноводство России. – 2019. – Т. 4. – С. 41-44.
6. Лазарева, М.В. Обоснование фармакологической коррекции минерального состава рационов для животных / М.В. Лазарева, Н.А. Шкиль, С.В. Мезенцева // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2020. – № 3(56). – С. 110-115.
7. Проворова, Н.А. К вопросу о балансировании минерального питания животных / Н.А. Проворова, М.Е. Дежаткин // Кремний и жизнь. Кремнистые породы в сельском хозяйстве. – 2021. – С. 195-199.
8. Егоров И.А. Современные подходы к кормлению птицы / И.А. Егоров // Птицеводство. – 2014. – №. 4. – С. 11-16.
9. Багно, О.А. Фитобиотики в кормлении сельскохозяйственных животных / О.А. Багно // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – Т. 53. – №. 4. – С. 687-697.
10. Маркин, Ю. Разумная альтернатива антибиотикам. Пробиотики в рационах для птицы / Ю. Маркин, Н. Нестеров // Животноводство России. – 2018. – № 2. – С. 8-11.
11. Андреева, О.Н. Минеральные компоненты сыворотки крови, структура скорлупы яиц и продуктивность мясных кур на фоне применения препаратов «Апекс» и «Эмицидин» / О.Н. Андреева // Вестник аграрной науки. 2020. – № 2 (83). – С. 147-156.
12. Byrne L., Murphy R.A. Relative bioavailability of trace minerals in production animal nutrition: A review // Animals. – 2022. – Т. 12. – №. 15. – P. 1981.
13. Effects of Different Concentration of Copper on Performance, Immunity and Carcass Traits in Broiler Japanese Quails / C. Deo, A. Biswas, D. Sharma, et al. // Biological Trace Element Research. – 2022. – P. 1-8.
14. Введение в рацион перепелов

хелатного комплекса цинка для коррекции биохимических показателей мяса / М.В. Лазарева, Е.В. Коновалова, Ю.И. Лихошерст, С.В. Мезенцева // Роль аграрной науки в устойчивом развитии сельских территорий : Сборник VI Всероссийской (национальной) научной конференции с международным участием, Новосибирск, 20 декабря 2021 года. – Новосибирск: Издательский центр Новосибирского государственного аграрного университета "Золотой колос", 2021. – С. 635-639.

15. Лазарева, М.В. Влияние хелатных соединений эссенциальных микроэлементов на рост перепелов / М.В. Лазарева, И.С. Лазарева, Н.А. Шкиль // Ветеринария. – 2021. – № 8. – С. 49-51.

16. Мезенцева, С.В. Влияние кормовой добавки Биокальций на биохимический статус крови перепелов / С.В. Мезенцева, М.В. Лазарева, Л.Н. Стацевич // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2022. – № 4(65). – С. 153-159.

REFERENCES

1. Voitsekhovskaya L.U., Verbitskii S.B., Franko E.V., Shelkovaya T.V. Nutrientnaja adekvatnost' kak kriterij vybora mjasnogo syr'ja dlja funkcional'nyh produktov. Agrarnaya nauka-sel'skomu khozyaistvu, 2022: 101-103. (In Russ.)

2. Zhidik I.Yu., Baranova A.A. Organolepticheskaja i mikrobiologicheskaja ocenka mjasa perepelov porody faraon pri vkljuchenii v racion mineral'noj dobavki «vermikulit». Aktual'nye problemy veterinarnoi nauki i praktiki (Materialy natsional'noi nauchno-prakticheskoi onlain-konferentsii fakul'teta veterinarnoi meditsiny IVMiB FGBOU VO Omskii GAU, Omsk, 13 noyabrya 2020 goda). – Omsk: FGBOU VO Omskii GAU, 2020: 113-116. (In Russ.)

3. Shamko V.V., Lyundyshev V.A. Rol' mikrojelementov i ih helatnyh form v normalizacii obmena veshhestv. Nauchnye osnovy razvitiya APK. 2022: 222-226. (In Russ.)

4. Sakhno O.N., Buyarov V.S. Jeffektivnost' promyshlennogo vyrashhivanija cypljat-brojlerov s primeneniem preparatov «Apeks» i «Jemicidin». Agrarnyi vestnik Verkhnevolzh'ya. 2018; 3 (24): 114-123. (In Russ.)

5. Merfi R. Mikrojelementy, korma i nedostatok jelementov v racione. Zhivotnovodstvo Rossii. 2019; 4: 41-44. (In Russ.)

6. Lazareva M.V., Shkil' N.A., Mezentseva S.V. Obosnovanie farmakologicheskoj korrekcii mineral'nogo sostava racionov dlja zhivotnyh. Vestnik NGAU (Novosibirskii gosudarstvennyi agrarnyi universitet). 2020; 3(56): 110-115. (In Russ.)

7. Provorova N.A., Dezhatkin M.E. K voprosu o balansirovanii mineral'nogo pitanija zhivotnyh. Kremnii i zhizn'. Kremnistye porody v sel'skom khozyaistve. 2021: 195-199. (In Russ.)

8. Egorov I.A. Sovremennye podhody k kormleniju pticy. Ptitsevodstvo. 2014; 4: 11-16. (In Russ.)

9. Bagno O.A. Fitobiotiki v kormlenii sel'skohozjajstvennyh zhivotnyh. Sel'skokhozyaistvennaya biologiya. 2018; 53 (4): 687-697. (In Russ.)

10. Markin Yu., Nesterov N. Razumnaja al'ternativa antibiotikam. Probiotiki v racionah dlja pticy. Zhivotnovodstvo Rossii. 2018; 2: 8-11. (In Russ.)

11. Andreeva O.N. Mineral'nye komponenty syvorotki krovi, struktura skorlupy jaic i produktivnost' mjasnyh kur na fone primenenija preparatov «Apeks» i «Jemicidin». Vestnik agrarnoi nauki. 2020; 2 (83): 147-156. (In Russ.)

12. Byrne L., Murphy R.A. Relative bioavailability of trace minerals in production animal nutrition: A review. Animals. 2022; 12 (15): 1981.

13. Deo C., Biswas A., Sharma D. Effects of Different Concentration of Copper on Performance, Immunity and Carcass Traits in Broiler Japanese Quails. Biological Trace Element Research. 2022: 1-8.

14. Lazareva M.V., Konovalova E.V., Likhosherst Yu.I., Mezentseva S.V. Vvedenie v racion perepelov helatnogo kompleksa cinka dlja korrekcii biohimicheskih pokazatelej mjasa. Rol' agrarnoi nauki v ustoichivom razvitii sel'skikh territorii (Sbornik VI Vserossiiskoi (natsional'noi) nauchnoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem, Novosibirsk, 20 dekabrya 2021

goda), Novosibirsk: Izdatel'skii tsentr Novosibirskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta "Zolotoi kolos". 2021: 635-639. (In Russ.)
15. Lazareva M.V., Lazareva I.S., Shkil' N.A. Vlijanie helatnyh soedinenij jessencial'nyh mikrojelementov na rost perepelov. Veterinariya. 2021; 8: 49-51. (In Russ.)
16. Mezentseva S.V., Lazareva M.V., Statsevich L.N. Vlijanie kormovoj dobavki Biokal'cij na biohimicheskij status krovi perepelov. Vestnik NGAU (Novosibirskii gosudarstvennyi agrarnyi universitet). 2022; 4(65): 153-159. (In Russ.)

УДК: 636.5.033
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.155

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭКСТРАКТА *QUERCUS CORTEX* И ХЛОРТЕТРАЦИКЛИНА В РАЦИОНЕ БРОЙЛЕРОВ: ПЕРЕВАРИМОСТЬ КОРМА, УБОЙНЫЕ КАЧЕСТВА БРОЙЛЕРОВ И СОДЕРЖАНИЕ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В ОРГАНИЗМЕ БРОЙЛЕРОВ

Букарева Е.А. * – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории молекулярно-генетических исследований в животноводстве (ORCID 0000-0002-1622-1284); **Лазебник К.С.** – мл. науч. сотр. лаборатории молекулярно-генетических исследований в животноводстве (ORCID 0000-0003-4907-9656); **Рахматуллин Ш.Г.** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отдела кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. С.Г. Леушина (ORCID 0000-0003-0143-9499)

ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук»

* elenka_rs@mail.ru

Ключевые слова: *Quercus cortex*, хлортетрациклин, бройлеры, переваримость корма, убойные качества.

Key words: *Quercus cortex*, chlortetracycline, broilers, feed digestibility, slaughter quality.

Финансирование: *Исследования выполнены по теме НИР № FNWZ-2022-0010.*

Поступила: 29.01.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

В птицеводстве постоянно используются кормовые добавки, улучшающие состояние птицы. Для данных целей используются антимикробные препараты. Однако, неизбирательное использование антибиотиков, ускоряет процесс распространения антибиотикорезистентности среди бактерий. В связи с этим, у исследователей вырос интерес к поиску альтернативных кормовых добавок. Растительные экстракты представляют значительный интерес в этом вопросе, так как они имеют широкий спектр биологических свойств, включая антибактериальную активность. Установлено, что фитобиотики, повышают продуктивность, коэффициент конверсии корма, безопасность и качество мяса. Среди потенциальных фитобиотиков следует выделить экстракт коры дуба (*Quercus cortex*), активность которого сопряжена с содержанием большего количества активных веществ. С учетом этого было сформулировано назначение данной работы, целью которой являлось изучение влияния экстракта *Quercus cortex* и кормового антибиотика Биовит 200 на основе 20% хлортетрациклина на переваримость корма, убойные свойства бройлеров и содержание в организме бройлеров химических веществ. Чтобы определить коэффициенты переваримости и усвоения кормовых веществ, проводили балансовые эксперименты по методике ВНИТИП в соответствии с методическими указаниями. Стандартизированными методиками были определены состав кормов, и экскрементов, а также организма в целом, по анализу проб: мы-

шечной и костной тканей, кожи, внутренних органов. Результаты, полученные в ходе исследования, позволяют предположить, что использование экстракта *Quercus cortex* (в дозе 0,2 мл/кг) как самостоятельно, так и в сочетании с Биовит 200 (в дозе 0,63 г/кг ж.м./сут способствовало увеличению показателя ЕИП, коэффициентов переваримости корма. Зафиксировано превышение по показателю убойного выхода в I, II и III группах над контрольной группой.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

При выращивании птицы часто используются кормовые добавки, улучшающие состояние птицы и продуктивность, а также качество производимой продукции. Успешное развитие отрасли на прямую зависит от правильной организации кормления [1]. Для данных целей используются антимикробные препараты, применение которых решает ряд вопросов, включая профилактику и лечение инфекций, стимулирование роста и улучшение продуктивности сельскохозяйственных животных [2]. Однако, неизбирательное использование антибиотиков, ускоряет процесс распространения антибиотикорезистентности среди бактерий, что приводит к неэффективному лечению и влечет экономические потери [2]. В связи с этим, у исследователей повысился интерес к поиску альтернативных кормовых добавок и использованию их в качестве заменителей антибиотиков в рационах для птицы. Растительные экстракты представляют значительный интерес в этом вопросе, по причине того, что они имеют широкий спектр биологических свойств**,** в том числе антибактериальную активность [2]. Установлено, что фитобиотики, повышают продуктивность, коэффициент конверсии корма, безопасность и качество мяса [3].

Среди потенциальных фитобиотиков следует выделить экстракт коры дуба (*Quercus cortex*), активность которого сопряжена с содержанием большего количества активных веществ, особенно дубильных и фенольных веществ, таких как ванилиновая, эллаговая и галловая кислоты [4]. Применение экстракта *Quercus cortex* на фоне введение ферментной добавки способствовало улучшению поедаемости корма и активизации пищеварительных процессов. Помимо этого, такой рацион позитивно влиял на жировой обмен [5]. Биологически активные вещества данного растительного экстракта способствовали усилению иммуномодулирующего состояния организма [6], улучшали убойные показатели бройлеров [7].

Подобные исследования совместного применения экстракта коры дуба (*Quercus cortex*) с различными веществами, раскрыты недостаточно, в связи с этим целью работы было изучение влияния экстракта коры дуба **(***Quercus cortex*) и кормового антибиотика Биовит 200 на основе 20% хлортетрациклина, как в комбинации, так и отдельно в качестве кормовой добавки на переваримость корма, убойные свойства бройлеров и содержание в организме бройлеров химических веществ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Комитет по этике животных ФНЦ БСТ РАН одобрил все процедуры ухода, обращения и отбора проб, использованные в этом исследовании, согласно протоколам Женевской конвенции и принципами надлежащей лабораторной практики (Национальный стандарт РФ ГОСТ Р 53434-2009).

Объектом изучения были цыплята-бройлеры, кросс Арбор Айкрес в количестве 120 штук. Распределение по группам осуществлялось методом пар-аналогов (в соответствии с полом, возрастом и живой массой (M±m, n=30)).

В исследовании использовали экстракт коры дуба (*Quercus cortex*) и кормовой антибиотик Биовит 200 (20 % хлортетрациклин) (Сиббиофарм, Россия).

Экспериментальная схема представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Экспериментальная схема

Группа	Рацион
Контрольная	ОР
I	ОР + экстракт *Quercus cortex* (0,2 мл/кг корма)
II	ОР + Биовит 200 – 20% хлортетрациклин (0,63 г/кг ж.м./сут)
III	ОР + экстракт *Quercus cortex* (0,2 мл/кг корма) + Биовит 200 – 20% хлортетрациклин (0,63 г/кг ж.м./сут)

Примечание: ОР – основной рацион

Микроклиматиеские условия в помещении соответствовали требованиям ВНИТИП (2013). В течение экспериментального периода комнатная температура поддерживалась на уровне 32°С ± 1°С, а цикл света и темноты был установлен на 18/6 часов. При кормлении и поении птицы использовался групповой способ, согласно рекомендациям ВНИТП (2013). Исследование длилось 42 дня, три повторения. Произведен расчет европейского индекса продуктивности (ЕИП) по формуле (1) [8]:

$$ЕИП = \frac{\text{Живая масса (кг)} \times \text{Сохранность (\%)}}{\text{Срок откорма (дней)} * \text{Конверсия корма (кг/кг)}} * 100\%, \quad (1)$$

Рацион состоял из (%): зерновая часть (пшеница, ячмень, кукуруза) – 58,3; белковые концентраты (соевый и подсолнечный шроты) – 32,9; подсолнечное масло – 5,1; дикальцийфосфат, мел кормовой, известняк, соль, аминокислоты (DL-метионин, L-Лизин), бикарбонат натрия, витаминно-минеральный премикс – 3,7.

С целью определения коэффициентов переваримости и усвоения питательных веществ проводили балансовые эксперименты согласно методическим указаниям ВНИТИП (2013) [9]. Анатомическая разделка тушек после убоя проводилась согласно методике ВНИТИП (2001) [10].

На базе ЦКП ФНЦ БСТ РАН (RA.RU21ПФ59 от 02.12.15) определяли химический состав кормов, экскрементов и организма в целом по анализу проб: мышечной и костной тканей, кожи, внутренних органов бройлеров в соответствии со стандартными методиками [11-17].

Статистическое исследование. Обработка результатов осуществлялась с помощью программного продукта «Statistika 10.0» («Stat Soft Inc.», США).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Количество потребляемого корма и переваримость. В I, III и IV группах затраты на 1 килограмм прироста живой массы оказались ниже контроля (на 3,63 и 2,59 %) (рисунок 1).

Сохранность поголовья во всех исследуемых группах была одинаковой (на 2,0 % больше, контрольных значений) (рисунок 1Б). ЕИП в I группе имел наибольшее значение (377,7 %), на 53,7 % выше по сравнению с контрольной группой. В II и III группах сохранилась тенденция увеличения данного показателя на 25,6 и 26,0 %, относительно контрольной группы (рисунок 2).

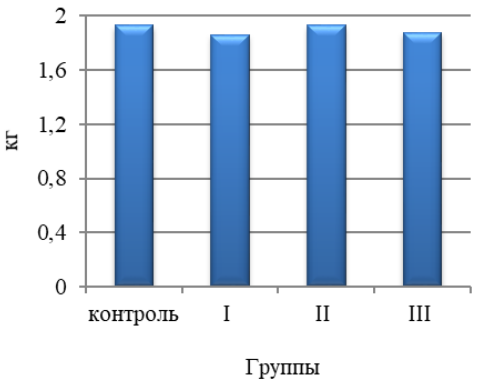


Рисунок 1 – Расход корма на 1 кг живой массы в период выращивания бройлеров, кг.

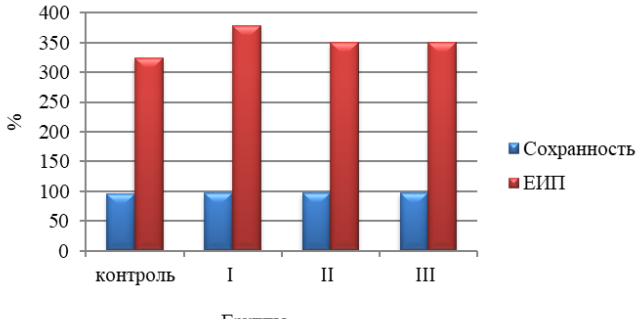


Рисунок 2 – Сохранность и ЕИП в период выращивания бройлеров, %.

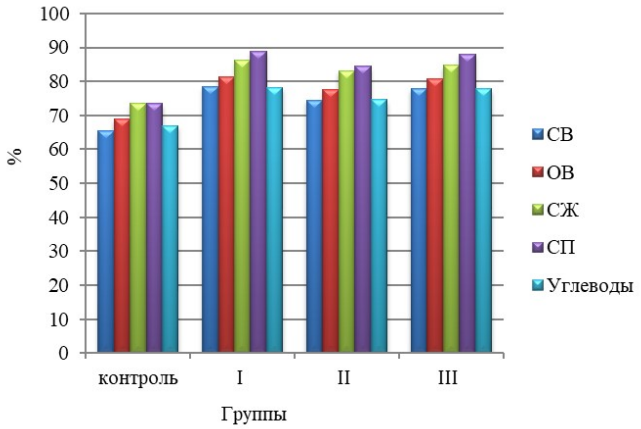


Рисунок 3 – Переваримость питательных компонентов корма. Стартовый период, %.

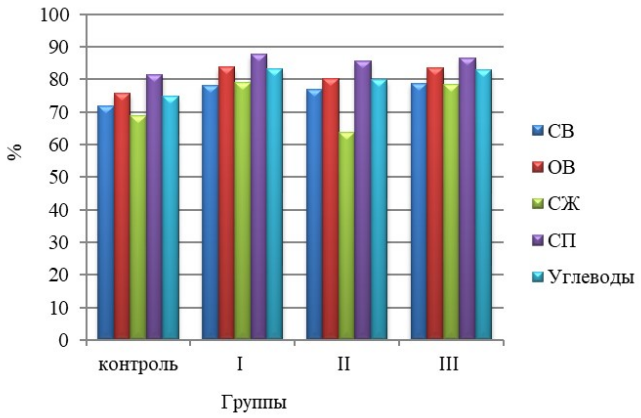


Рисунок 4 – Переваримость питательных компонентов корма. Ростовой период, %.

Анализ химического состава кормов показал, что в стартовые и ростовые периоды что содержите сырого протеина, было 197,2-219,9 г/кг; жира – 66,8-70,5 г/кг; сырой клетчатки 42,0-44,3 г/кг; БЭВ – 484,5-526,5 г/кг.

В стартовый (7-20 дней) период показатель переваримости сырого жира в опытных группах превышал контрольные значения. Максимальное значение по переваримости сырого жира отмечалось в I группе, что было на 17,3 % больше, относительно контрольных значений (рисунок 3).

В ростовой (21-42 дня) период тенденция роста коэффициентов переваримости

сохранилась в I и III группах. В I и III группах этот показатель был на 15,0 и 13,8 % больше, чем в контроле, на фоне снижения его на 7,58 % во II группе (рисунок 4).

Тенденция увеличения коэффициентов переваримости сохранилась при анализе переваримости протеина. Так, в I, II и III группах переваримость протеина были выше на 21,0 ($p \leq 0,05$); 15,1 и 19,9 %, относительно контроля (рисунок 3). В ростовом периоде тенденция к увеличению переваримости протеина сохраняется при максимальном увеличении в I группе на 7,52 %, относительно контрольной группы (рисунок 4).

Во время стартового и ростового периодов переваримость углеводов в I группе увеличилась на 16,8 и 11,3 % ($p \leq 0,05$) относительно контрольных значений (рисунок 3).

Убойные качества и содержание в организме бройлеров химических веществ. Предубойная масса в I группе (2497,3 г) оказался выше, чем в контрольной на 9,17 % ($p \leq 0,05$) (рисунок 5).

Данный показатель во II и III группах был на 2,9 и 7,0 % выше контрольных значений, соответственно. По результатам убоя в I группе отмечена тенденция более высокого выхода потрошенной тушки на 11,7 %, мышечной ткани на 3,02 % (рисунок 6), съедобной части на 6,3 % (рисунок 7).

Минимальные значения содержания мышечной ткани (982,1 г) отмечены во II группе, на фоне максимальных по содержанию костной ткани (517,0 г), относительно контрольных значений (рисунок 8).

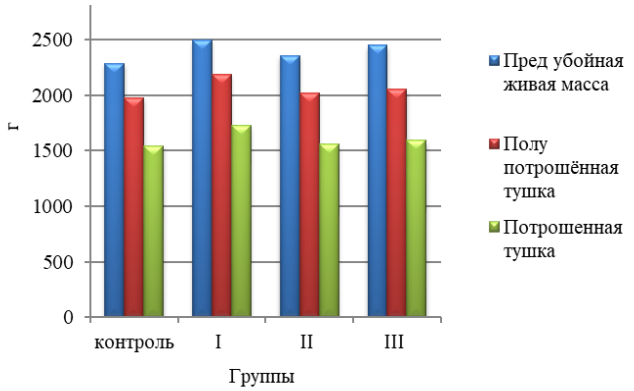


Рисунок 5 – Убойные качества бройлеров. Предубойная живая масса, полупотрошённая и потрошенная тушки, г.

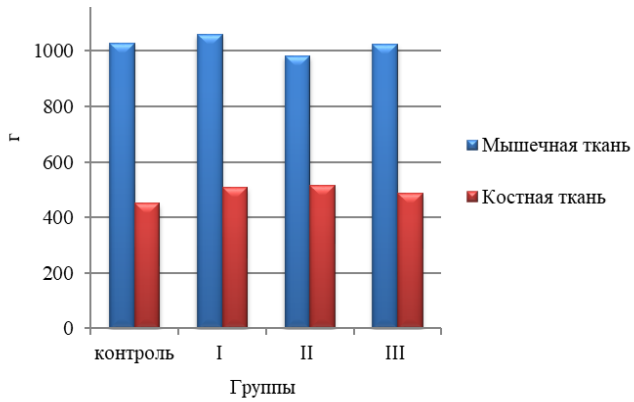


Рисунок 6 – Убойные качества бройлеров. Мышечная и костная ткани, г.

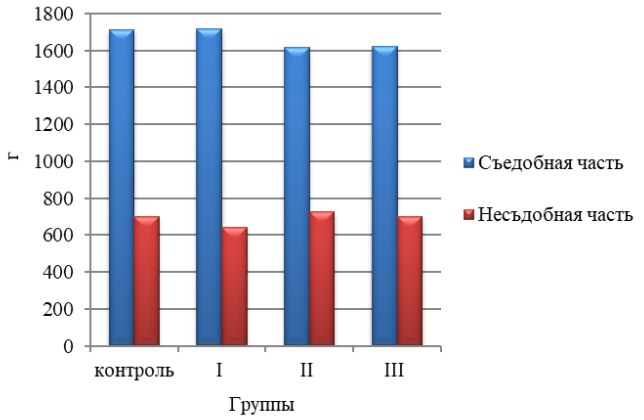


Рисунок 7 – Убойные качества бройлеров. Съедобная и несъедобная части, г.

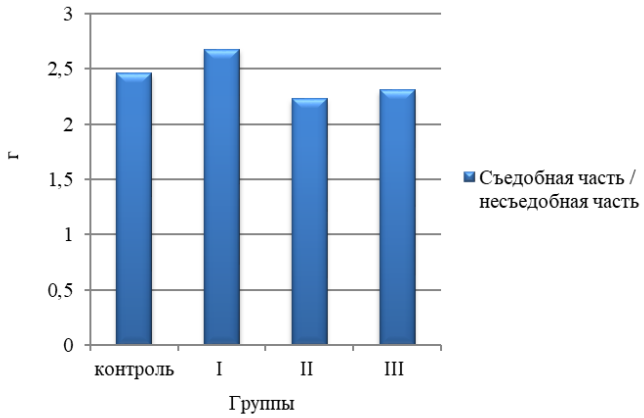


Рисунок 8 – Убойные качества бройлеров. Съедобная часть / несъедобная часть.

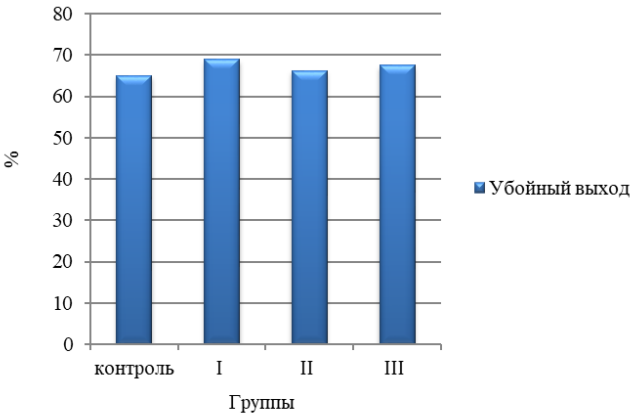


Рисунок 9 – Убойные качества бройлеров. Убойный выход, %.

Максимальное значение отношения показателя съедобной части к несъедобной части отмечено в I группе, на фоне минимального во II группе, относительно контроля (рисунок 3Г). Активные обменные процессы, происходящие в организме, определяются кормовым фактором, что подтверждается доказанным превосходством (на 3,9; 1,2 и 2,5 %) по убойному выходу в I, II и III группах, относительно контрольного аналога (рисунок 9).

В конце экспериментального исследования в организме бройлеров I группы отмечено увеличение сухого вещества (на 0,2 %) и протеина (на 0,1 %) относительно контрольных значений, на фоне низкого содержания жира (на 0,3 % меньше контрольных значений). Минимальные значения по содержанию протеина отмечены в организме бройлеров II группы, что на 0,9 % ($p \leq 0,05$) меньше, чем в контрольной группе, на фоне максимального значения по содержанию жира (на 0,2 % больше контрольных значений). Кроме того, в данный период отмечены незначительные снижения содержания сухого вещества (на 0,1 %) и протеина (на 0,2 %) в организме бройлеров III группы относительно контроля (рисунок 10).

В конце эксперимента содержание ОЭ и КОЭ в организме бройлеров I группы было максимальным (28,5 МДж/кг СВ и 10,2 МДж), что на 2,52 % ($p \leq 0,05$) и 6,25 % больше, чем в контроле, на фоне более низкого содержания данных показателей во II и III группах (рисунок 11А, 11Б).

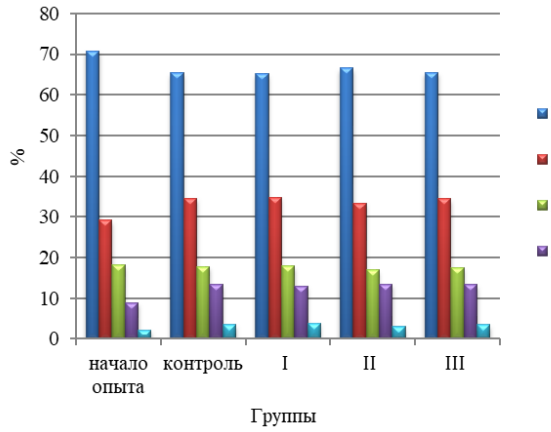


Рисунок 10 – Химические вещества, содержащиеся в организме бройлеров, %.

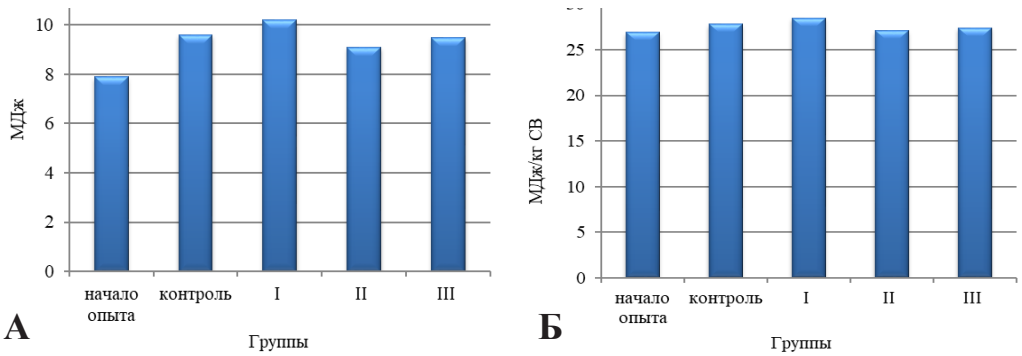


Рисунок 11 – Содержание ОЭ (А), МДж; КОЭ (Б), МДж/кг СВ.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Европейский индекс продуктивности (ЕИП) в группах с добавлением к рациону экстракта коры дуба (*Quercus cortex)* был максимальным, установлено превосходство по показателю убойного выхода. Показатели переваримости жира и протеина и углеводов имели тенденцию к увеличению при введении в рацион бройлеров экстракта коры дуба (*Quercus cortex*) как отдельно, так и совместно с Биовит 200.

THE USE OF *QUERCUS CORTEX* EXTRACT AND CHLORTETRACYCLINE IN THE DIET: FEED DIGESTIBILITY, SLAUGHTER TRAITS AND THE CONTENT OF CHEMICALS IN ORGANISM OF BROILERS

Bukareva E. A. * – Candidate of biological sciences, senior researcher, Federal Research Centre of Biological Systems and Agro-technologies of the Russian Academy of Sciences (ORCID 0000-0002-1622-1284), **Lazebnik K. S.** – Junior Researcher, Federal Research Centre of Biological Systems and Agro-technologies of the Russian Academy of Sciences (ORCID 0000-0003-4907-9656), **Rakhmatullin Sh. G.** – Candidate of biological sciences, senior researcher, Federal Research Centre of Biological Systems and Agro-technologies of the Russian Academy of Sciences (ORCID 0000-0003-0143-9499).

Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences

* elenka_rs@mail.ru

Financing: *The research was carried out under the theme of research work No. FNWZ-2022-0010.*

ABSTRACT

In the poultry industry, feed additives with positive effects on the condition of the poultry are constantly used. Antimicrobials are used for this purpose. However, the indiscriminate use of antibiotics accelerates the spread of antibiotic resistance among bacteria. Hence, researchers have increased interest in finding alternative feed additives. Plant extracts are of considerable interest in this matter as they have a wide range of biological properties including antibacterial activity. Phytobiotics, have been found to increase productivity, feed conversion ratio, safety and meat quality. Among the potential phytobiotics, oak bark extract (*Quercus cortex*) should be emphasized, the activity of which is associated with the content of more active substances. With this in mind, the purpose of this work was formulated to study the effect of *Quercus cortex* extract and the feed antibiotic Biovit 200 based on 20% chlorotetracycline on feed digestibility, its slaughter properties and the content of chemicals in the body of broilers.

The results obtained during the study suggest that the use of *Quercus cortex* extract (at a dose of 0,2 ml/kg) both alone and in combination with Biovit 200 (at a dose of 0,63 g/kg w.m./day contributed to an increase in the EIP index, digestibility coefficients. An excess in slaughter yield in I, II and III groups over the control group was recorded.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Шацких, Е. В. Переваримость питательных веществ корма и мясная продуктивность цыплят-бройлеров при различных вариантах и дозах скармливания комплексной кормовой добавки / Е. В. Шацких, Д. М. Галиев // Аграрный вестник Урала. – 2017. – № 10 (164). – С. 56-62. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=32299254

2.Agyare, C. Antibiotic Use in Poultry Production and Its Effects on Bacterial Resistance / C. Agyare, V. Etsiapa Boamah, C. Ngofi Zumbi, F. Boateng Osei // Antimicrobial Resistance - A Global Threat. IntechOpen. 2019. – DOI 10.5772/intechopen.7937. URL: https://www.researchgate.net/publication/330292444_Antibiotic_Use_in_Poultry_Production_and_Its_Effects_on_Bacterial_Resistance_Antibiotic_Use_in_Poultry_Production_and_Its_Effects_on

3.Duskaev, G. K. The effect of purified

Quercus cortex extract on biochemical parameters of organism and productivity of healthy broiler chickens / G. K. Duskaev, N. M. Kazachkova, A. S. Ushakov, B. S. Nurzhanov, A. F. Rysaev // Veterinary World. 2018:11(2):235-239. – DOI 10.14202/vetworld.2018.235-239. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29657410

4.Hammod, Ali J. The Effect of Adding Oak Bark Powder to the Diet on Some Productive and Immunological Characteristics of Broiler Chicks / Ali J. Hammod, Aqeel Y. Alshukri, Ammar H. Areaaer, Khalil A. Alfertosi, Ali F. Alyasari // International Journal of Poultry Science.2019:18:7-13. – DOI 10.3923/ijps.2019.7.13. URL: https://scialert.net/fulltext/?doi=ijps.2019.7.13

5.Дускаев, Г. К. Изменение продуктивных качеств цыплят-бройлеров на фоне энзимосодержащей диеты и экстракта Quercus cortex / Г. К. Дускаев, Н. М. Казачкова, А. С. Ушаков, Б. С. Нуржанов, А. Ф. Рысаев, Ш. Г. Рахматуллин, Н. И. Рябов // Животноводство и кормопроизводство. – 2019. – Т. 102. – № 2. - С. 125 135. DOI 10.33284/2658 3135 102 2 125. Режим доступа: https://cyberleninka.ru/article/n/izmenenie-produktivnyh-kachestv-tsyplyat-broylerov-na-fone-enzimosoderzhascheydiety-i-ekstrakta-quercus-cortex

6.Фисинин, В. И. Изменение иммунологических и продуктивных показателей у цыплят-бройлеров под влиянием биологически активных веществ из экстракта коры дуба / В. И. Фисинин, А. С. Ушаков, Г. К. Дускаев, Н. М. Казачкова, Б. С. Нуржанов, Ш. Г. Рахматуллин, Г. И. Левахин // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – Т. 53. – № 2. – С. 385-392. – DOI 10.15389/agrobiology.2018.2.385rus. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=34995589

7.Багиров, В. А. Включение экстракта Quercus cortex в рацион бройлеров изменяет их убойные показатели и биохимический / В. А. Багиров, Г. К. Дускаев, Н. М. Казачкова, Ш. Г. Рахматуллин, Е. В. Яушева, Д. Б. Косян, Ш. А. Макаев, Х. Б. Дусаева // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – Т. 53. – № 4. С. 799 810. DOI 10.15389/agrobiology.2018.4.799rus. Режим доступа: https://cyberleninka.ru/article/n/vklyuchenie-ekstrakta-quercus-cortex-v-ratsion-broylerov-izmenyaet-ih-uboynye-pokazateli-i-biohimicheskiy

8.Кавтарашвили, А. Ш. Российские индексы эффективности производства яиц и мяса птицы / А. Ш. Кавтарашвили // Птица и птицепродукты. – 2015. – № 1. – С. 62 65. Режим доступа: https://old.vniipp.ru/images/statya/0115/st62.pdf

9.Методика проведения научных и производственных исследований по кормлению сельскохозяйственной птицы / И. А. Егоров, В. А. Манукян, Т. Н. Ленкова – Сергиев Посад: ВНИТИП, 2013. – 52 с. Режим доступа: http://www.vnitip.ru/books/izdaniya_15.html

10.Методические рекомендации по проведению анатомической разделки тушек и органолептической оценки качества мяса и яиц сельскохозяйственной птицы и морфологии яиц / В. С. Лукашенко, М. А. Лысенко, Т. А. Столлер, А. Ш. Кавтарашвили, О. А. Лукашенко, В. В. Дычаковская, А. И. Калашников. – Сергиев Посад: ВНИТИП, 2001. – 27 с. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?edn=sdoljj

11.ГОСТ 31675-2012 Методы определения содержания сырой клетчатки с применением промежуточной фильтрации. Режим доступа: https://docs.cntd.ru/document/1200097397

12.ГОСТ 13496.15-2016 Методы определения массовой доли жира. Режим доступа: https://internet-law.ru/gosts/gost/63036

13.ГОСТ 13496.4-2019 Методы определения содержания азота и сырого протеина. Режим доступа: https://docs.cntd.ru/document/1200166800

14.ГОСТ 31640-2012 Методы определения содержания сухого вещества. Режим доступа: https://docs.cntd.ru/document/1200095394

15.ГОСТ 9793-2016. Методы определения влаги. Режим доступа: https://docs.cntd.ru/document/1200144231

16.ГОСТ 23042-2015. Методы определения жира. Режим доступа: https://docs.cntd.ru/document/1200133107

17.ГОСТ 25011-2017. Методы определе-

ния белка. Режим доступа: https://docs.cntd.ru/document/1200146783.

REFERENCES

1.Shatskikh, E. V. Digestibility of feed nutrients and meat productivity of broiler chickens in various variants and doses of feeding a complex feed additive / E. V. Shatskikh, D. M. Galiev // Agrarian Bulletin of the Urals.2017:10(164):56-62. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=32299254 (In Russ.)

2.Agyare, C. Antibiotic Use in Poultry Production and Its Effects on Bacterial Resistance / C. Agyare, V. Etsiapa Boamah, C. Ngofi Zumbi, F. Boateng Osei // Antimicrobial Resistance - A Global Threat. IntechOpen. 2019. – DOI 10.5772/intechopen.7937. URL: https://www.researchgate.net/publication/330292444_Antibiotic_Use_in_Poultry_Production_and_Its_Effects_on_Bacterial_Resistance_Antibiotic_Use_in_Poultry_Production_and_Its_Effects_on

3.Duskaev, G. K. The effect of purified Quercus cortex extract on biochemical parameters of organism and productivity of healthy broiler chickens / G. K. Duskaev, N. M. Kazachkova, A. S. Ushakov, B. S. Nurzhanov, A. F. Rysaev // Veterinary World. 2018:11(2):235-239. – DOI 10.14202/vetworld.2018.235-239. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29657410

4.Hammod, Ali J. The Effect of Adding Oak Bark Powder to the Diet on Some Productive and Immunological Characteristics of Broiler Chicks / Ali J. Hammod, Aqeel Y. Alshukri, Ammar H. Areaaer, Khalil A. Alfertosi, Ali F. Alyasari // International Journal of Poultry Science.2019:18:7-13. – DOI 10.3923/ijps.2019.7.13. URL: https://scialert.net/fulltext/?doi=ijps.2019.7.13

5.Duskaev, G. K. Changes in the productive qualities of broiler chickens against the background of an enzyme-containing diet and Quercus cortex extract / G. K. Duskaev, N. M. Kazachkova, A. S. Ushakov, B. S. Nurzhanov, A. F. Rysaev, Sh. G. Rakhmatullin, N. I. Ryabov // Animal husbandry and feed production. 2019:102(2):125 135. DOI 10.33284/2658 3135 102 2 125.URL: https://cyberleninka.ru/article/n/izmenenie produktivnyh kachestv tsyplyat broylerov na fone enzimosoderzhaschey-diety-i-ekstrakta-quercus-cortex (In Russ.)

6.Fisinin, V. I. Changes in immunological and productive parameters in broiler chickens under the influence of biologically active substances from oak bark extract / V. I. Fisinin, A. S. Ushakov, G. K. Duskaev, N. M. Kazachkova, B. S. Nurzhanov, Sh. G. Rakhmatullin, G. I. Levakhin // Sel'skokhozyaistvennaya biologiya. 2018:53(2):385 392. DOI 10.15389/agrobiology.2018.2.385rus. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=34995589 (In Russ.)

7.Bagirov, V. A. The inclusion of Quercus cortex extract in the diet of broilers changes their slaughter parameters and biochemical / V. A. Bagirov, G. K. Duskaev, N. M. Kazachkova, Sh. G. Rakhmatullin, E. V. Yausheva, D. B. Kosyan, Sh.A. Makaev, H. B. Dusaeva // Sel'skokhozyaistvennaya biologiya. 2018:53(4);799-810. – DOI 10.15389/agrobiology.2018.4.799rus. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/vklyuchenie-ekstrakta-quercus-cortex-v-ratsion-broylerov-izmenyaet-ih-uboynye-pokazateli-i-biohimicheskiy (In Russ.)

8.Kavtarashvili, A. Sh. Russian indices of efficiency of egg and poultry meat production / A. Sh. Kavtarashvili // Poultry and poultry products. 2015:1:62-65. URL: https://old.vniipp.ru/images/statya/0115/st62.pdf (In Russ.)

9.Methods of scientific and production research on feeding poultry / И. А. Egorov, V. A. Manukyan, T. N. Lenkova – Sergiev Posad: VNITIP, 2013:52. URL: http://www.vnitip.ru/books/izdaniya_15.html (In Russ.)

10.Methodical recommendations for anatomical cutting of carcasses and organoleptic evaluation of meat and eggs quality of poultry and egg morphology / V. S. Lukashenko, M. A. Lysenko, T. A. Stoller, A. Sh. Kavtarashvili, O. A. Lukashenko, V. V. Dychakovskaya, A. I. Kalashnikov – Sergiev Posad: VNITIP, 2001:27. URL: https://

elibrary.ru/item.asp?edn=sdoljj (In Russ.)
11.GOST 31675-2012 Methods of determination of crude fiber content using intermediate filtration. URL: https://docs.cntd.ru/document/1200097397 (In Russ.)
12.GOST 13496.15-2016 Methods for determining the mass fraction of fat. URL: https://internet-law.ru/gosts/gost/63036 (In Russ.)
13.GOST 13496.4-2019 Methods of determination of nitrogen and crude protein content. URL: https://docs.cntd.ru/document/1200166800 (In Russ.)
14.GOST 31640-2012 Methods of determining the content of dry matter. URL: https://docs.cntd.ru/document/1200095394 (In Russ.)
15.GOST 9793-2016. Methods of moisture determination. URL: https://docs.cntd.ru/document/1200144231 (In Russ.)
16.GOST 23042-2015. Methods for the determination of fat. URL: https://docs.cntd.ru/document/1200133107 (In Russ.)
17.GOST 25011-2017. Methods for determination of protein. URL: https://docs.cntd.ru/document/1200146783 (In Russ.)

УДК: 639.3.043.2
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.166

ПРОИЗВОДСТВО КОРМА ДЛЯ РЫБ АКВАПОННЫМ МЕТОДОМ

Максим Е.А. [2] – канд. биол. наук, зав. ИТЦ Аквакультуры (ORCID 0000-0003-1578-0145); **Юрин Д.А.** [1*] – канд. с.-х. наук, вед. науч. сотр. отд. технологии животноводства (ORCID 0000-0003-1517-4858); **Гнеуш А.Н.** [2] – канд. с.-х. н., доц., зав. каф. биотехнологии, биохимии и биофизики (ORCID 0000-0003-4931-795X); **Тлецерук И.Р.**[1,3] – д-р с.-х. наук, доц., проф. каф. землеустройства (ORCID 0000-0003-4673-4707); **Скамарохова А.С.** [1] – науч. сотрудник отд. кормления и физиологии сельскохозяйственных животных (ORCID 0000-0001-6821-429X)

[1] ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии»
[2] ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина»
[3] ФГБОУ ВО «Майкопский государственный технологический университет»

*4806144@mail.ru

Ключевые слова: рыбоводство; аквапоника; гидропоника; пророщенное зерно, кормление рыб
Key words: fish farming; aquaponics; hydroponics; germinated grain, fish feeding

Финансирование: *Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках научно-инновационного проекта № НИП-20.1/22.32.*

Поступила: 15.12.2023 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Аквапоника – одна из самых эффективных систем сельскохозяйственного производства; однако имеются ограниченные данные об уровне ее эффективности. Целью проведенных исследований было изучение проращивания зерна пшеницы в качестве аквапонного корма для растительноядных рыб в аквапонной установке. Методы: было изучено экспериментальное получение аквапонного корма для растительноядных рыб, выращиваемых в поликультуре (карп, сазан, белый амур, черный амур, толстолобик), методом проращивание зерна пшеницы. В аквапонном устройстве можно не только выращивать растения, но и проращивать их семена перед посадкой в грунт. Вода за счет непрерывного стекания насыщается кислородом (на 3,5 % больше, чем в бассейне без аквапонного устройства). Это является положительным фактором для роста рыбы и экономии электроэнергии при снижении продолжительности работы оксигенераторов. Помимо этого, использование аквапонного устройства, обеспечивает благоприятные условия для выращивания растений и рыб при значительном снижении стоимости монтажа конструкций и уменьшении затрат на ее эксплуатацию. Установлено повышение всхожести зерна пшеницы при его проращивании в аквапонной установке на 2,0 %; увеличение длины ростков при проращивании – на 27,5 %; длины корней – на 32,2 %; увеличение содержания сырого протеина – на 2,2 %; витамина B_2 – на 6,1 %; каротина – на 4,6 %. Показатели безопасности гидропонного

корма находились в пределах санитарно-гигиенических нормативов. Результаты данного исследования для производства гидропонного корма растительноядным рыбам непосредственно в рыбоводческом хозяйстве показывают, что при производстве ценного витаминизированного растительного экологически безопасного корма целесообразно применение аквапонного метода с использованием воды, насыщенной питательными веществами.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Аквапоника на сегодняшний день известна как одна из самых эффективных систем сельскохозяйственного производства; однако имеются ограниченные данные об уровне ее эффективности. Анализ работ зарубежных авторов продемонстрировал, что аквапоника более эффективна, чем гидропоника. Более высокие потери азота и фосфора в гидропонике происходят в основном из-за более высоких поступлений азота и фосфора, вызывая в 2 раза более высокие потери азота из-за выброса газа и до 3 раз более высокие потери фосфора через неорганический фосфат в сточных водах по сравнению с аквапоникой [2, 4].

Аквапоника представляет собой интеграцию гидропоники с аквакультурой, процесс, который может производить два вида продукции одновременно, используя преимущества обеих систем. Что еще более важно, это могло бы сократить потребление воды и сброс отходов в окружающую среду за счет рециркуляции отработанных питательных веществ. Хорошо управляемая аквапоника может повысить эффективность использования питательных веществ, снизить потребление воды и повысить продуктивность рыб и растений. Таким образом, она становится экологически безопасным способом производства продуктов питания и широко применяется для выращивания высококачественной рыбы и растениеводческой продукции [1, 6].

Чтобы прокормить растущее население мира возникнет острая потребность в высокопроизводительных и устойчивых системах производства продуктов питания, при максимальном увеличении повторного использования воды и питательных веществ и уменьшении воздействия на окружающую среду, особенно в районах с ограниченными водными ресурсами. Гидропоника, выращивание растений в воде, обогащенной питательными веществами, была интегрирована с системами аквакультуры, чтобы сформировать аквапонические системы. В аквапонике продукты жизнедеятельности рыб преобразуются биофильтром в растворимые питательные вещества, которые усваиваются растениями и позволяют «чистой» воде возвращаться обратно рыбам. Аквапоника, как система с замкнутым контуром, способна стать важным фактором развития интегрированных систем производства пищевых продуктов и представляет собой форму интегрированной мультитрофической системы, которая приобрела популярность в последние несколько лет. Хорошо управляемая аквапоника может повысить эффективность удержания питательных веществ, сократить потребление воды и сброс отходов (в основном, питательных веществ) в окружающую среду, максимально использовать площади культивирования и повысить прибыльность за счет одновременного выращивания двух товарных культур. За последние десятилетия использовалось много видов гидропонных растений, включая листовые овощи, водяной шпинат, салат, мяту, базилик и шпинат [3, 5].

К подбору объектов культивирования аквапонным способом следует относиться как к наиболее важному определяющему звену технологии и бизнеса в целом. Именно от выбора объекта выращивания во многом зависит не только получение прибыли, но и основные технологические моменты и подбор оборудования, расходных материалов и квалификация рабочего персонала. Но не следует забывать и такое понятие, как рыночная стоимость готовой растительной продукции, если она несопоставимо мала даже при мини-

мальных затратах, то следует выбрать другой объект выращивания, который приведет к рентабельности внедрения проекта [4, 7].

При выборе культуры для проращивания в целях скармливания растительноядным рыбам аквапонным методом следует руководствоваться следующими принципами: рентабельность проращивания, рынок сбыта, его заполняемость и заинтересованность; возможности совмещения бассейнового осетроводства и прудового товарного рыбоводства (культивирование растительноядных рыб); наличие рабочей силы и близость расположения населенных пунктов, дорог, коммуникаций к водному объекту; возможности дальнейшей реализации и расширения производственной базы; срок проращивания зерна, которое очень важно для недопущения развития патогенной микрофлоры; отсутствие у объекта проращивания признаков или возможностей для оказания негативного влияния на водный объект; особенно актуально применение цикличного проращивания зерна.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Целью исследований было изучение проращивания зерна пшеницы в качестве аквапонного корма для растительноядных рыб в аквапонной установке. В ходе опыта решены следующие задачи: определить скорость прорастания, всхожесть зерна пшеницы при использовании аквапонной установки; изучить влияние аквапонного способа проращивания на длину ростков зерна пшеницы, количество и длину корней; проанализировать химический состав пророщенного зерна и содержание в нем витамина B_2 и каротина.

В условиях ООО «Албаши», расположенном в Ленинградском районе Краснодарского края было изучено экспериментальное проращивание зерна пшеницы методом аквапоники для получения подкормки для растительноядных рыб, выращиваемых в поликультуре (карп, сазан, белый амур, черный амур, толстолобик).

Рынок сбыта в северной части Краснодарского края обеспечивает полностью реализацию полученной товарной продукции аквапоники.

Условия выращивания в полной мере соответствуют выбранным культурам.

Применение в кормовых целях пророщенных зерен растительноядным рыбам безопасно.

Выращивание дополнительной растениеводческой продукции в условиях аквакультуры не привнесло значительных изменений в устоявшийся технологический цикл производства.

Дополнительных рабочих единиц не понадобилось, выращивание аквапонного корма производилось силами рабочих предприятия, занятых процессами рыборазведения;

Проращивание аквапонной подкормки возможно с конца марта – начала апреля до октября-ноября.

В хозяйстве ООО «Албаши» имеются бассейны и садки для выращивания осетровых, а также пруды для культивирования поликультуры (карп, сазан, белый амур, черный амур, толстолобик).

В таблице 1 представлена схема эксперимента.

Таблица 1 – Схема опыта

Группа	Условия опыта
1 (контроль)	Проращивание зерна пшеницы в водопроводной воде в условиях помещения в стаканчиках
2 (опыт)	Проращивание зерна пшеницы в условиях аквапонной установки в стаканчиках

Аквапонное устройство имеет в составе емкость для содержания рыбы, а также систему для выращивания растений. В системе для выращивания растений имеются модули, расположенные по ярусам, труба с выходными патрубками, насос для циркуляции воды и устройство для выпуска воды из системы для выращивания растений в емкость для рыб.

В таком аквапонном устройстве можно не только выращивать растения, но и проращивать семена перед посадкой в грунт. Вода за счет непрерывного стекания насыщается кислородом (на 3,5 % выше, чем в бассейне без аквапонного устройства), что является положительным моментом для роста рыбы и экономии электроэнергии для снижения продолжительности работы оксигенератора.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Всхожесть семян при проращивании зерна пшеницы в первой (контрольной) группе составила 97,0 %, а во второй (опытной) группе, в аквапонной установке, – 99,0 %.

Наибольшая всхожесть выявлена при применении аквапонного способа, что вполне объяснимо повышенной концентрацией в воде биогенных веществ, выделяемых рыбой, которые усиливают рост вегетативных частей зерна.

Масса 100 штук зерен пшеницы в сухом виде была равна 4,2 г в обеих группах, а после замачивания через 12 часов в контрольной группе была равна 11,2±0,21 г, а во второй (опытной) группе – 13,8±0,31 г (P<0,001), что оказалось выше на 23,2 %.

Длина ростков зерен пшеницы на 3-й день проращивания достоверно повысилась во 2 (опытной) группе, по сравнению с первой (контрольной) – на 27,5 % (P<0,01).

На 6-й день культивирования зерна длина ростков увеличилась во 2 (опытной) группе на 27,4 % (P<0,05), при этом длина корней повысилась на 32,2 %, относительно первой группы (P<0,01).

Химический состав пшеницы при проращивании разными способами представлен в таблице 2.

Таблица 2 – Химический состав пшеницы при проращивании разными способами

Группа	Показатели					
	Сырой протеин	Сырой жир	Сырая клетчатка	Сырая зола	Витамин B_2, мкг/г	Каротин, мкг/г
1 (контроль)	10,89 ±0,75	2,68 ±0,05	11,02 ±0,54	3,06 ±0,02	6,40 ±0,07	189,5 ±3,7
2 (опыт)	13,11 ±0,88*	2,70 ±0,04	11,00 ±0,38	2,98 ±0,03	6,80 ±0,05***	198,3 ±3,5*

*Примечание: * – P<0,05; *** – P<0,001.*

В ходе проведения эксперимента установлено достоверное увеличение содержания сырого протеина в пророщенной пшенице второй (опытной) группы на 20,4 % (P<0,05), витамина B_2 – на 6,3 % (P<0,001). Накопление каротина в пророщенном зерне в контроле составило 189,5±3,7 мкг/г и в 2 (опытной) группе – 198,3±3,5 мкг/г, или выше на 4,6 % (P<0,05). Объем продукции зависит от размеров аквапонической установки и выхода товарной продукции.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Всхожесть семян при проращивании зерна пшеницы в первой (контрольной) группе составила 97,0 %, а во второй (опытной) группе, в аквапонной установке, – 99,0 %. Длина ростков зерен пшеницы на 3-й день проращивания достоверно повысилась во 2 (опытной) группе, по сравнению с первой (контрольной) – на 27,5 % (P<0,01).

Установлено достоверное увеличение содержания сырого протеина в пророщенной пшенице второй (опытной) группы на 20,4 % (P<0,05), витамина B2 – на 6,3 % (P<0,001). Накопление каротина в пророщенном зерне в контроле составило 189,5±3,7 мкг/г и в 2 (опытной) группе – 198,3±3,5 мкг/г, или выше на 4,6 % (P<0,05). Результаты данного исследования производства гидропонного корма для растительноядных рыб непосредственно в рыбоводном хозяйстве, свидетельствуют о том, что с целью получения растительного целесообразно применение аквапонного метода.

PRODUCTION OF FISH FOOD BY AQUAPONIC METHOD

Maxim E.A. [2] – Candidate of Biological Sciences, Head of ITC Aquaculture (ORCID 0000-0003-1578-0145), **Yurin D. A.** [1*] – Candidate of Agricultural Sciences, Leading Researcher of the department livestock technologies (ORCID 0000-0003-1517-4858), **Gneush A.N.** [2] – Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor, Head. department biotechnology, biochemistry and biophysics (ORCID 0000-0003-4931-795X), **Tletseruk I.R.**[1,3] – Doctor of Agricultural Sciences., associate professor, professor of the department land management (ORCID 0000-0003-4673-4707), **Skamarokhova A.S.** [1] – Researcher of the department feeding and physiology of farm animals (ORCID 0000-0001-6821-429X)

[1] Krasnodar Research Centre for Animal Husbandry and Veterinary Medicine 350055, Krasnodar, village. Znamensky, Pervomayskaya str. 4

[2]Federal State Budgetary Educational institution of Higher Education "Kuban State Agrarian University named after I.T. Trubilin", 350044, Krasnodar, Kalinina str., 13

[3]Maikop State Technological University

*4806144@mail.ru

Financing: *The research is carried out with the financial support of the Kuban Science Foundation in the framework of the scientific and innovative project Num. NIP-20.1/22.32.*

ABSTRACT

Aquaponics is one of the most efficient agricultural production systems; however, there is limited data on its level of effectiveness. The purpose of the research was to study the germination of wheat grain as aquaponic food for herbivorous fish in an aquaponic installation. The experimental production of aquaponic food for herbivorous fish grown in polyculture (carp, grass carp, black carp, silver carp) was studied by the method of wheat grain germination. In an aquaponic device, you can not only grow plants, but also germinate their seeds before planting in the ground. Water is saturated with oxygen due to continuous flow (3.5% more than in a pool without an aquaponic device). This is a positive factor for the growth of fish and energy savings while reducing the duration of the oxygen generators. In addition, the use of an aquaponic device provides favorable conditions for growing plants and fish with a significant reduction in the cost of installation of structures and a decrease in the cost of its operation. An increase in the germination of wheat grain during its germination in an aquaponic installation by 2.0% was established; increase in the length of sprouts during germination - by 27.5%; root length - by 32.2%; increase in the content of crude protein - by 2.2%; vitamin B_2 - by 6.1%; carotene - by 4.6%. Hydroponic feed safety indicators were within the limits of sanitary and hygienic standards. The results of this study for the production of hydroponic feed for herbivorous fish directly in the fish farm show that in the production of valuable fortified vegetable environmentally safe feed, it is advisable to use the aquaponic method using water saturated with nutrients.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Щербатов, С.А. Садковое выращивание молоди русского осетра от активной личинки до массы 1 грамм / С.А. Щербатов, А.З. Юсупова, Л.М. Васильева // Вестник рыбохозяйственной науки. - 2014. - Т. 1. - № 4. - С. 91-96.

2.Юрина Н.А. Использование нетрадиционного компонента в качестве кормовой добавки / Н.А. Юрина, Н.Л. Мачнева, М.С. Козлова, Ю.Н. Колесник // Аграрный научный журнал. - 2019. - № 2. - С. 53-56.
3.Abouelezz K.F.M., Sayed M.A.M., Abdelnabi M.A. Evaluation of hydroponic barley sprouts as a feed supplement for laying Japanese quail: Effects on egg production, egg quality, fertility, blood constituents, and internal organs // Animal Feed Science and Technology. - 2019. - Vol. 252. - pp 126-135. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.04.011
4.Cohen A., Malone S., Morris Z., Weissburg M., Bras B. Combined Fish and Lettuce Cultivation: An Aquaponics Life Cycle Assessment // Procedia CIRP. - 2018. – Vol. 69. – pp 551–556 https://doi.org/10.1016/j.procir.2017.11.029.
5.Delaide B., Delhaye G., Dermience M. et al. Plant and fish production performance, nutrient mass balances, energy and water use of the PAFF Box, a small-scale aquaponic system // Aquacultural Engineering. - 2017. - Vol. 78. - pp 130-139. https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2017.06.002
6.Fang Y., Hu Z., Zou Y., Fan J. Increasing economic and environmental benefits of media-based aquaponics through optimizing aeration pattern // Journal of Cleaner Production – 2017. – 162. - pp 1111-1117. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.06.158
7.Greenfeld A., Becker N., Bornman J.F., Santos M.J., Ange D. Consumer preferences for aquaponics: A comparative analysis of Australia and Israel // Journal of Environmental Management. - 2020. - Vol. 257. – 109979. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109979
8.Suhl J., Dannehl D., Kloas W., Baganz D. et al. Advanced aquaponics: Evaluation of intensive tomato production in aquaponics vs. conventional hydroponics // Agricultural Water Management. – 2016. - Vol. 178. - pp 335–344. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2016.10.013. (In Russ.)

REFERENCES

1.Shcherbatov, S.A. Cage rearing of Russian sturgeon fry from active larva to 1 gram weight / S.A. Shcherbatov, A.Z. Yusupova, L.M. Vasilyeva // Bulletin of fishery science. - 2014. - V. 1. - No. 4. - S. 91-96.
2.Yurina N.A. The use of an unconventional component as a feed additive / N.A. Yurina, N.L. Machneva, M.S. Kozlova, Yu.N. Kolesnik // Agrarian scientific journal. - 2019. - No. 2. - S. 53-56.
3.Abouelezz K.F.M., Sayed M.A.M., Abdelnabi M.A. Evaluation of hydroponic barley sprouts as a feed supplement for laying Japanese quail: Effects on egg production, egg quality, fertility, blood constituents, and internal organs // Animal Feed Science and Technology. - 2019. - Vol. 252. - pp 126-135. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.04.011
4.Cohen A., Malone S., Morris Z., Weissburg M., Bras B. Combined Fish and Lettuce Cultivation: An Aquaponics Life Cycle Assessment // Procedia CIRP. - 2018. – Vol. 69. – pp 551–556 https://doi.org/10.1016/j.procir.2017.11.029.
5.Delaide B., Delhaye G., Dermience M. et al. Plant and fish production performance, nutrient mass balances, energy and water use of the PAFF Box, a small-scale aquaponic system // Aquacultural Engineering. - 2017. - Vol. 78. - pp 130-139. https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2017.06.002
6.Fang Y., Hu Z., Zou Y., Fan J. Increasing economic and environmental benefits of media-based aquaponics through optimizing aeration pattern // Journal of Cleaner Production – 2017. – 162. - pp 1111-1117. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.06.158
7.Greenfeld A., Becker N., Bornman J.F., Santos M.J., Ange D. Consumer preferences for aquaponics: A comparative analysis of Australia and Israel // Journal of Environmental Management. - 2020. - Vol. 257. – 109979. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109979
8.Suhl J., Dannehl D., Kloas W., Baganz D. et al. Advanced aquaponics: Evaluation of intensive tomato production in aquaponics vs. conventional hydroponics // Agricultural Water Management. – 2016. - Vol. 178. - pp 335–344. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2016.10.013. (In Russ.)

УДК: 639.3.091:612.11/.12(476)
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.172

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИНТЕСТИНАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА ФОРЕЛИ РАДУЖНОЙ, ОТОБРАННОЙ С РАЗЛИЧНЫХ РЫБОВОДНЫХ ХОЗЯЙСТВ РЕСПУБЛИКИ КАРЕЛИЯ

Сидорова Н.А. [1] – канд. биол. наук, доцент; **Карпенко Л.Ю.** [2] – д-р биол. наук, проф.; **Бахта А.А.** [2] – канд. биол. наук, доц.; **Савушкин А.И.** [1] – науч. сотр.; **Никонов И.Н.** [2] – канд. биол. наук, асс.

[1] ФГБОУ ВО «ПетрГУ»;
[2] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*l.u.karpenko@mail.ru

Ключевые слова: *аквакультура, микробиом, мониторинг, радужная форель*
Keywords: *aquaculture, microbiome, monitoring, rainbow trout*

Финансирование. *Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 322-23 (Соглашение № 23-16-20026), проводимого совместно с Республикой Карелия с финансированием из Фонда венчурных инвестиций Республики Карелия (ФВИ РК).*

Поступила: 27.02.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Микробиоценоз кишечника рыб представлен полостной и пристеночной микрофлорой, обладающей сложными функциональными связями между собой и с кишечной стенкой. Цель исследования заключалась в выявлении особенностей биоразнообразия интестинальной микрофлоры кишечника радужной форели, выращенной в рыбоводных хозяйствах Карелии. Изучение интестинальной микрофлоры кишечника радужной форели выполняли на базе рыбоводных хозяйств РК, территориально расположенных в акватории 4 водоемов, отличающихся комплексом гидрологических, гидрохимических и гидробиологических характеристик. Это Кондопожская губа Онежского озера, залив Рауталахти Ладожского озера, Крошнозеро и озеро Насоновское. Для статистической обработки полученных данных по результатам сравнительного анализа интестинальной микрофлоры кишечника исследуемых групп радужной форели применяли составление вариационного ряда, расчет средней величины исследуемого признака и среднюю стандартную ошибку. Объектом исследования для изучения состава интестинальной микрофлоры кишечника стала радужная форель *Parasalmo mykiss* (Walbaum, 1792) породы «Рофор». Микробиологический анализ показал, что что качественная и количественная изменчивость микробиома кишечника отличается в зависи-

мости от среды выращивания форели. Выделены 14 функциональных групп бактерий: целлюлозолитики, бациллы, лактобациллы, бифидобактерии, селеномонады, актинобактерии, энтеробактерии, фузобактерии, пептококки, стафилококки, кампилобактерии, патогенные клостридии, пастереллы и псевдомонады. Доля целлюлозолитиков (Eubacteriaceae, Clostridiaceae, Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, Bacteroidetes и т.д.) изменялась от 49.1 до 55.3%; бацилл – от 0,9 до 8,7%, лактобацилл – от 5,0 до 13,7%.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Филогенетические группы микроорганизмов в составе слизистой оболочки кишечника обладают большим разнообразием важных функции. Это регуляция биохимических процессов, защита от колонизации условно-патогенными и патогенными бактериями, восстановление целостности кишечного эпителия, синтез биологически активных соединений, контроль иммунологического равновесия [Vasemagi et al., 2017]. Негативное воздействие факторов окружающей среды, включая абиотические и биотические параметры, нерациональную антибиотикотерапию, несбалансированные рационы, стрессы часто приводят к нарушению биоразнообразия нормофлоры кишечника, избыточному росту патогенов, проникновению их во внутренние среды с последующим развитием бактериальных инфекций и целого комплекса патологических процессов в органах и системах макроорганизма.

Микробиоценоз кишечника рыб представлен полостной и пристеночной микрофлорой, обладающей сложными функциональными связями между собой и с кишечной стенкой. К настоящему времени, благодаря выполненному филогенетическому анализу и идентификации микроорганизмов in situ установлено, что в составе микробного сообщества кишечника радужной форели преобладают β-протеобактерии (*Acinetobacter, Pseudomonas, Shewanella, Plesiomonas, Proteus*) и γ-протеобактерии (*Aeromonas* и *Enterobacteriaceae*) [Spanggaard et al., 2000; Huber et al., 2004]. В работе Parshukov A.N. et al., (2019) сообщается о составе кишечной микрофлоры во время острой стадии бактериальной инфекции. В результате анализа микрофлоры желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) 29 экземпляров трехгодовиков радужной форели обнаружено, что альфа-разнообразие (индексы Chao1, Simpson и Shannon) микробного сообщества у клинически здоровых особей радужной форели значительно выше, чем у больных рыб. В работе Zhou C., Yang S., Ka W. et al. (2022) описаны результаты исследования, проведенного на радужной форели в условиях повышенной температуры. Обнаружено, что тепловой стресс серьезно влияет на питание, рост, иммунитет и устойчивость к болезням. Эти изменения тесно связаны с нарушением функции кишечного барьера, изменением кишечной микрофлоры и метаболической дисфункцией на уровне ЖКТ. Установлено, что с увеличением температуры, относительное обилие и разнообразие кишечной микрофлоры значительно снижаются. Изменения метаболитов, связанных с аминокислотами, витаминами и короткоцепочечными жирными кислотами в сыворотке крови радужной форели при стрессе, сильно коррелируют со снижением относительного обилия различных кишечных микроорганизмов. Стресс также серьезно влияет на структуру кишечника и функцию анатомо-физиологического барьера, а также вызывает патологические повреждения эпителиальных клеток. Полученные авторами результаты исследований свидетельствуют, что при разных условиях товарного выращивания рыбы, микробиом кишечника радужной форели остро реагирует на стресс, способствует нарушению передачи метаболитов через кишечный барьер, влияя на его целостность.

В исследовании Pelusio N. F. et al. (2020), посвященному изучению влияния органических кислот (ОК) и природно-идентичных соединений (ПИС) на радужную форель выявлено, что в случае температурного стресса добавление в рацион

форели органических кислот и идентичных природных соединений не устраняют эффекты, вызванные повышением температуры воды. Высокая температура воды активирует цитокины и снижает разнообразие микробиома. При этом, подобранный рацион не оказывает существенного влияния на экспрессию кишечных цитокинов и микробиом кишечника. Установлено, что важным фактором, влияющим на структуру кишечной микрофлоры, является изменение pH кишечника в кислую сторону, что благоприятно сказывается на развитии грамотрицательной микрофлоры [Sehnal et al., 2021].

В контексте использования пробиотических микроорганизмов или пребиотических добавок для модификации микрофлоры кишечника рыб, известны результаты исследований биоразнообразия интестинальной микрофлоры форели [Pond et al., 2006]. Для устранения недостатка данных, связанных с природой выявленной микрофлоры, которая должна быть модифицирована до или после пробиотической терапии, выполнена работа, направленная на изучение нормальной микрофлоры кишечника радужной форели с использованием как традиционных бактериологических, так и молекулярных методов. Проанализирована микрофлора кишечника популяции радужной форели, выращенной в лабораторных условиях. Бактерии, выделенные с использованием бактериологических методов, были идентифицированы с использованием системы BiOLOG и секвенирования гена 16S рРНК. В качестве доминантов выделены *Aeromonas* spp. и *Carnobacterium piscicola*, что свидетельствует о стабильности микрофлоры рыбы, содержащейся в заданных условиях эксперимента. Анализ полиморфизма длины рестрикционного фрагмента (RFLP) и последовательности гена 16S рРНК были использован для исследования анаэробных и некультивируемых бактерий. К доминантному облигатному анаэробу микрофлоры кишечника исследуемой группы форели отнесен вид *Clostridium gasigenes*.

Проанализированные литературные источники указывают на разноплановость исследований микрофлоры кишечника радужной форели и в тоже время подтверждают актуальность подходов к всестороннему изучению кишечной бактериофлоры объектов аквакультуры. Важность состава интестинальной микрофлоры кишечника для состояния здоровья рыбы, а также вопросы, связанные с условиями колонизации кишечника рыб нормальными микроорганизмами, до сих пор остаются открытыми. Необходимо комплексно подходить к изучению состава кишечной микрофлоры при разных условиях выращивания, что чрезвычайно важно для разработки и внедрения в практику индустриального рыборазведения альтернативных способов терапевтической защиты здоровья кишечника объектов аквакультуры. Цель исследования заключалась в выявлении особенностей биоразнообразия интестинальной микрофлоры кишечника радужной форели, выращенной в рыбоводных хозяйствах Карелии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объектом исследования для изучения состава интестинальной микрофлоры кишечника стала радужная форель *Parasalmo mykiss* (Walbaum, 1792) породы «Рофор», имеющая соответствующее таксономическое описание по классификации Артамоновой В.С. и Махрова А.А. (2016).

Изучение интестинальной микрофлоры кишечника радужной форели выполняли на базе рыбоводных хозяйств РК, территориально расположенных в акватории 4 водоемов, отличающихся комплексом гидрологических, гидрохимических и гидробиологических характеристик. Это Кондопожская губа Онежского озера, залив Рауталахти Ладожского озера, Крошнозеро и озеро Насоновское. На момент исследования (июль-август 2023 г) условия содержания радужной форели в рыбоводных хозяйствах соответствовали технологическим требованиям согласно Руководству по ветеринарно-санитарному контролю (2018). Основные гидрологогидрохимические показатели рабохозяй-

ственных водоемов, на которых было проведено исследование состава интестинальной микрофлоры кишечника радужной форели, представлены в таблице 1.

Для реализации цели исследования с каждого водоема было отобрано по 5 особей P. mykiss в возрасте 1+. Основные морфометрические параметры обследованных экземпляров форели представлены в таблице 2. На момент исследования масса двухлеток форели находилась в диапазоне от 220 до 294 г, общая длина тела – от 233 до 253 мм, высота тела – от 53 до 57 мм.

Таблица 1 – Основные гидролого-гидрохимические показатели исследуемых рабохозяйственных водоемов

Параметр	Кондопожская губа	Рауталахти	Крошнозеро	озеро Насоновское
T воды, °C	17.9	18.4	20.6	19.2
$БПК_5$, мг/л	1.9	1.9	1.8	2.1
pH	6.82	6.89	6.71	6.58
Аммоний-ион, мг/дм^3	0.053	0.051	0.051	0.054
Фосфатный фосфор, мг/дм^3	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01
Железо, мг/дм^3	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
GH общая жесткость, °	2-3	2-3	2-3	2-3
kH карбонатная жесткость, °	1	1	1	1

Таблица 2 – Морфометрические показатели исследуемых особей Parasalmo mykiss

озеро Насоновское (n = 5)					
масса, кг	AC, мм	AD, мм	L, мм	H, мм	Lr, мм
230±0.01	240±9.4	184±1.6	253±9.5	56.8±1.6	57±9.2
Рауталахти (n = 5)					
294±0.03	218±5.4	185±1.3	233±4.4	53.8±0.7	33±4.4
Крошнозеро (n = 5)					
275±0.03	231±6.2	181±1.2	247±5.1	54.9±1.2	52±6.3
Кондопожская губа Онежского озера (n = 5)					
220±0.01	206±3.5	173±0.9	233±4.9	52.8±0.6	33±4.1

Примечание: AC – расстояние от начала рыла до конца чешуйчатого покрова, AD – расстояние от жаберной щели до конца чешуйчатого покрова, L – общая длина до выемки хвостового плавника, H – высота тела, Lr = AC-AD

Для изучения состава интестинальной микрофлоры кишечника *Parasalmo mykiss* использованы классические методы анализа бактериофлоры, основанные на выделении чистых культур бактерий из ассоциации с последующим изучением фенотипических свойств выделенных культур. Отбор проб фоновой микрофлоры кишечника выполняли в условиях строгой асептики. Для этого туловище рыбы с левой стороны освобождали от слизи и чешуи, удаляли брюшной и грудной плавники и фламбировали спиртовым тампоном. Брюшную стенку отсекали стерильными ножницами полулунным разрезом от ануса к жаберной крышке. Затем удаляли кишечник, надрезав его в области псевдодиафрагмы и ануса. С изолированного кишечник отбирали пристеночную микрофлору и помещали в заранее подготовленные стерильные пробирки с забуференной пептонной водой для неселек-

тивного накопления бактерий, в том числе, и сублетально угнетенных энтеробактерий. Полученные накопительные культуры использовали для идентификации по фенотипическим признакам, регламентированным в Определителе бактерий Берджи (1997). В качестве основных фенотипических маркеров использовали принадлежность к определенному морфотипу, тинкториальные и культуральные признаки, а также биохимическую активность (присутствие каталазы, цитохромоксидазы, способность к аммонификации и утилизации сахаров). Для определения каталазы и цитохромоксидазы использовали коммерческие наборы реагентов Микро-Каталаза-НИЦФ и Микро-Цитохромоксидаза-НИЦФ. Для оценки способности энтеробактерий аммонифицировать белки и утилизировать сахара применяли гидролизат рыбной муки и традиционные питательные среды с углеводами и многоатомными спиртами, используемые в микробиологии [Маннапова, 2021].

Для статистической обработки полученных данных по результатам сравнительного анализа интестинальной микрофлоры кишечника исследуемых групп радужной форели применяли составление вариационного ряда, расчет средней величины исследуемого признака и среднюю стандартную ошибку [Ивантер, 1970].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В составе интестинальной микрофлоры кишечника исследуемых экземпляров форели обнаружено 14 функциональных групп бактерий. Это целлюлозолитики, бациллы, лактобациллы, бифидобактерии, селеномонады, актинобактерии, энтеробактерии, фузобактерии, пептококки, стафилококки, кампилобактерии, патогенные клостридии, пастереллы и псевдомонады. Доля целлюлозолитиков (Eubacteriaceae, Clostridiaceae, Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, Bacteroidetes и т.д.) изменялась от 49.1 до 55.3%; бацилл – от 0.9 до 8.7%, лактобацилл – от 5до 13.7%. Бифидобактерии присутствовали только в составе микрофлоры форели из рыбоводных хозяйств, расположенных на акватории Кондопожскй губы Онежского озера и залива Рауталахти – 0.2-0.3%. Доля селеномонад изменялась от 8.5 до 17.4% На долю условно-патогенной и патогенной микрофлоры в сообществе, в среднем приходилось от 0.12% (энтеробактерии, оз. Насоновское) до 7.4% (актинобактерии, Кондопожская губа Онежского озера).

Для форели из оз. Насоновского отмечено наиболее низкое содержание представителей нормальной микрофлоры в виде бактерий-целлюлозолитиков (руминококков, эубактерий, бактероидов, клостридий и т.д.) и бацилл. При этом, доля селеномонад в данном образце была наибольшей. В образце из данной группы отмечено также и наибольшее содержание условно-патогенных актинобактерий, энтеробактерий, патогенных пептококков. Также установлено присутствие патогенных фузобактерий, кампилобактерий, патогенных клостридий и пастерелл.

Для форели из залива Рауталахти Ладожского озера отмечено высокое содержание представителей нормофлоры, наибольшее содержание лактобацилл среди остальных опытных образцов, высокая доля селеномонад. В составе интестинальной бактериофлоры обнаружено присутствие представителей условно патогенных актинобактерий, энтеробактерий и патогенных фузобактерий, пептококков, наивысшая доля присутствия патогенных кампилобактерий среди остальных групп. Для форели, отобранной из рыбоводного хозяйства, расположенного в акватории Крошнозеро было также выявлено высокое содержание представителей нормофлоры в кишечнике, наибольшая доля присутствия бацилл и наименьшая доля лактобацилл среди остальных исследуемых экземпляров форели. Необходимо отметить, что для данной группы рыб характерна наименьшая доля присутствия условно-патогенных актинобактерий, но при этом наибольшая доля патогенных фузобактерий и стафилококков среди исследованных образцов. Также было отмечено присутствие условно-патогенных энтеробактерий и патогенных

кампилобактерий. Для форели, отобранной из рыбоводного хозяйства, расположенного в акватории Кондопожской губы Онежского озера отмечено высокое содержание представителей нормофлоры, наибольшая доля присутствия бактерий-целлюлозолитеиков и наименьшая доля селеномонад среди остальных исследуемых образцов кишечной бактериофлоры. Также в данном образце отмечена наименьшая доля присутствия условно-патогенных энетробактерий, установлено наличие условно-патогенных актинобактерий, патогенных фузобактерий, пептококков, стафилококков, кампилобактерий и пастерелл. Также в исследованных образцах было отмечено присутствие некультивируемой микрофлоры**.** Данные микроорганизмы невозможно выявить и изучить с помощью традиционных методов микробиологии - культивирования на питательных средах. Их роль в пищеварении рыб также пока неизвестна. Кроме того, анализ полученных данных показал, что у всех исследуемых рыб в кишечнике присутствовала транзитная микрофлора в виде псевдомонад. Данные микроорганизмы поступают в желудочно-кишечный тракт с кормом и водой и в случае нарушения анатомофизиологического барьера или адаптогенных свойств организма могут провоцировать развитие условно-патогенных инфекций с переходом в эпизоотии.

В исследуемых группах были проанализированы микробиомы пилоритических придатков форели. Результаты представлены в таблице 3 и на диаграмме идентифицированных таксонов (рис. 2). Анатомическое расположение пилорических придатков и интестинальной части кишечника изображено на фотографии (рис. 1).

Рисунок 1 – Анатомические особенности пищеварительного тракта радужной форели (ист. https://ya.ru/images/search).

Для группы форели из Кондопожской губы Онежского озера отмечено наименьшее содержание таких представителей нормофлоры, как бактерии-целлюлозолитики (руминококки, эубактерии, бактероиды, клостридии и т.д.) и бациллы среди остальных исследованных образцов. Также в данном образце отмечено низкое, относительно остальных проб, содержание лактобацилл. При этом в данном образце было отмечено высокое содержание селеномонад, наивысшее содержание бифидобактерий. Также в данном образце отмечено присутствие условно-патогенной и патогенной микрофлоры. Содержание условно-патогенных энтеробактерий, патогенных фузобактерий, пептококков и стафилококков было наиболее высоким среди остальных образцов. Также отмечено присутствие условно-патогенных актинобактерий, патогенных кампилобактерий и пастерелл.

Таблица 3 – Содержание микроорганизмов в пилорических придатках исследуемых групп радужной форели, %

Микроорганизмы	Роль микроорганизма	Рыбоводные хозяйства			
		Кондопожская губа	Рауталахти	Крошнозеро	озеро Насоновское
Нормофлора					
Целлюлозолитики (сем. *Eubacteriaceae, Clostridiaceae, Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, Bacteroidetes и т.д.)*	«Полезные» микроорганизмы, расщепляющие растительную клетчатку и некрахмалистые полисахариды углеводы кормов	55,86	64,93	64,31	56,03
Бациллы *(Bacillus* sp.*)*	«Полезные» микроорганизмы, обладающие антимикробной активностью в отношении патогенов и др. полезными свойствами	1,54	1,97	2,03	2,43
Лактобациллы *(Lactobacillus* sp.*)*	«Полезные» микроорганизмы, обладающие антимикробной активностью в отношении патогенных микроорганизмов	3,44	4,43	3,01	9,37
Бифидобактерии (сем. *Bifidobacteriaceae)*		0,12	0	0	0,08
Селеномонады *(Selenomonas* sp.*, Veillonella* sp*)*	Разлагают органические кислоты	10,55	7,91	8,27	11,57
Условно-патогенная микрофлора					
Актинобактерии *(Microbacterium* sp.*, Arthrobacter* sp.*)*	Возбудители актиномикозов	3,15	6,29	6,24	2,87
Энтеробактерии (сем. *Enterobacteriaceae)*	Возбудители гастроэнтеритов	2,97	1,54	0,55	1,89
Патогенная микрофлора					
Фузобактерии *(Fusobacterium* sp.*)*	Возбудители различных инфекционных заболеваний	3,38	0,09	0,42	1,59
Пептококки (сем. *Peptococcaceae)*		1,36	1,26	0,86	0,46
Стафилококки *(Staphylococcus* sp.*)*		0,29	0,04	0,05	0,5
Кампилобактерии (сем. *Campylobacteriaceae)*		1,82	2,54	4,42	4,06
Патогенные клостридии *C. perfringens, C. noviy*		0	0,37	0,13	0
Пастереллы (сем. *Pasterellaceae)*		0,18	0,05	0,25	0,59
Некультивируемая и транзитная микрофлора					
Псевдомонады (сем. *Pseudomonadaceae)*	Микроорганизмы, поступающие с кормом	2,98	0,33	2,5	1,94
Некультивируемые бактерии	Роль не ясна	12,36	8,25	6,96	6,62

Для группы форели, разводимой в акватории залива Рауталахти Ладожское озеро было отмечено более высокое содержание представителей нормальной микрофлоры. Отмечена наибольшая доля целлюлозолитических микроорганизмов, содержание бацилл, лактобацилл, селеномонад. Примечательно, что в данной группе содержится самая низкая доля условно-патогенных актинобактерий, в то время как в других группах содержание актинобактерий было наивысшим. Также в исследованных образцах опытных групп отмечено присутствие условно-патогенных энтеробактерий, патогенных фузобактерий, пептококков, стафилококков, кампилобактерий, патогенных клостридий и пастерелл. Важно отметить, что во всех исследованных образцах кишечника отмечена высокая доля патогенных кампилобактерий - до 4,42%. Также в исследованных образцах было отмечено присутствие некультивируемой микрофлоры**.** Данные микроорганизмы невозможно выявить и изучить с помощью традиционных методов микробиологии - культивирования на питательных средах. Их роль в пищеварении также пока неизвестна. Кроме того, анализ полученных данных показал, что у всех исследуемых рыб в кишечнике присутствовала транзитная микрофлора в виде псевдомонад.

Анализ микрофлоры пилорических придатков исследуемых групп радужной форели показал существенные различия.

Для группы форели из Кондопожской губы Онежского озера отмечено наиболее низкое содержание представителей нормальной микрофлоры в лице бактерий-целлюлозолитиков (руминококков, эубактерий, бактероидов, клостридий и т.д.) и бацилл среди остальных исследованных образцов опыта. При этом, доля селеномонад в данном образце была наивысшей среди остальных проб. Вместе с тем в образце из данной группы отмечено наибольшее содержание условно-патогенных актинобактерий, энтеробактерий, патогенных пептококков. Также установлено присутствие патогенных фузобактерий, кампилобактерий, патогенных клостридий и пастерелл.

Для группы форели, разводимой в акватории залива Рауталахти /Ладожское озеро отмечено высокое содержание представителей нормофлоры, наибольшее содержание лактобацилл среди остальных опытных образцов, высокая доля селеномонад. В данном образце также отмечено присутствие представителей условно патогенных актинобактерий, энтеробактерий и патогенных фузобактерий, пептококков, наивысшая доля присутствия патогенных кампилобактерий среди остальных групп.

Микрофлора форели, разводимой в акватории Крошнозеро состояла из высокого содержания представителей нормофлоры, наибольшая доля присутствия бацилл и наименьшая доля лактобацилл среди остальных опытных образцов. В данном образце отмечена наименьшая доля присутствия условно-патогенных актинобактерий, но при этом наибольшая доля патогенных фузобактерий и стафилококков среди исследованных образцов. Также было отмечено присутствие условно-патогенных энтеробактерий и патогенных кампилобактерий.

Для группы форели, разводимой в акватории Насоновского озера отмечено высокое содержание представителей нормофлоры, наибольшая доля присутствия бактерий-целлюлозолитеиков и наименьшая доля селеномонад среди остальных опытных образцов. Также в данном образце отмечена наименьшая доля присутствия условно-патогенных энетробактерий, установлено наличие условно-патогенных актинобактерий, патогенных фузобактерий, пептококков, стафилококков, кампилобактерий и пастерелл.

Также в исследованных образцах было отмечено присутствие некультивируемой микрофлоры. Данные микроорганизмы невозможно выявить и изучить с помощью традиционных методов микробиологии - культивирования на питательных средах. Их роль в пищеварении рыб также пока неизвестна.

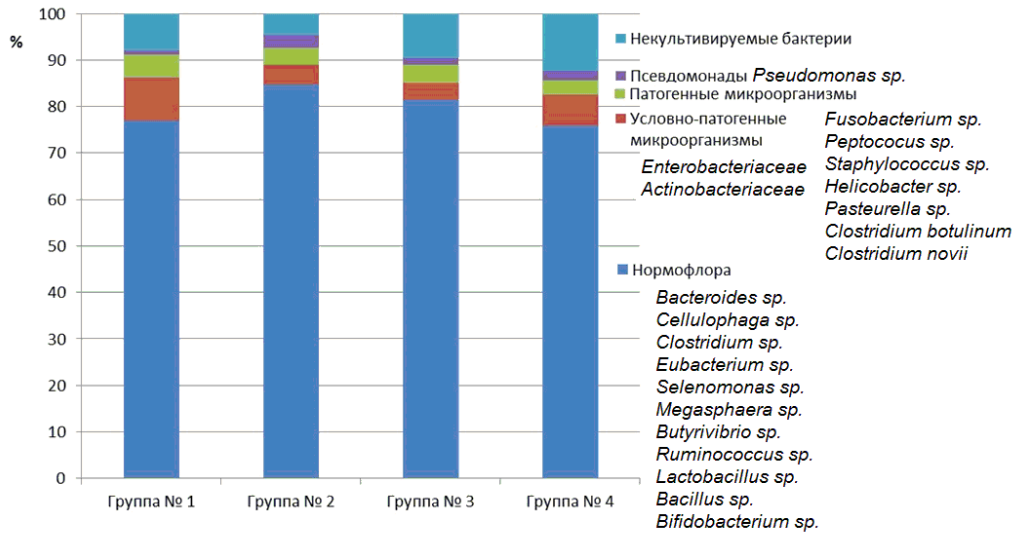


Рисунок 2 – Представленность основных групп микроорганизмов в слепых отростках форели.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате выполненного исследования проанализирован состав микрофлоры кишечника у 20 особей радужной форели в возрасте 1+, отобранной из 4 рыбоводных хозяйств РК, территориально расположенных в бассейне Кондопожской губы Онежского озера, залива Рауталахти Ладожского озера, Крошнозеро и Озера Насоновского. Благодаря анализу литературы, посвященной особенностям микробиома кишечника *P. mykiss* в зависимости от условий окружающей среды подтверждена актуальность выполненных исследований. Для анализа интестинальной микрофлоры кишечника и пилорических придатков исследуемых групп радужной форели использован комплексный подход, основанный на микробиологическом анализе совокупности фенотипических признаков исследуемой бактериофлоры.

Микробиологический анализ показал, что что качественная и количественная изменчивость микробиома кишечника отличается в зависимости от среды выращивания форели. Выделены 14 функциональных групп бактерий: целлюлозолитики, бациллы, лактобациллы, бифидобактерии, селеномонады, актинобактерии, энтеробактерии, фузобактерии, пептококки, стафилококки, кампилобактерии, патогенные клостридии, пастереллы и псевдомонады. Доля целлюлозолитиков (Eubacteriaceae, Clostridiaceae, Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, Bacteroidetes и т.д.) изменялась от 49.1 до 55.3%; бацилл – от 0.9 до 8.7%, лактобацилл – от 5до 13.7%.

В результате изучения микробиома кишечника форели и пилорических придатков, для всех исследованных групп описаны Bacteria: Actinobacteria, Bacillota, Proteobacteria. Идентифицированы представители 23 родов с преобладанием в составе совокупного микробиома желудочно-кишечного тракта нормальной микрофлоры в виде бактерий-целлюлозолитиков (руминококков, эубактерий, бактероидов, клостридий и т.д.). В группе форели, выращенной в акватории Кондопожской губы Онежского озера отмечено наибольшее содержание условно-патогенных актинобактерий, энтеробактерий, патогенных пептококков.

Также установлено присутствие патогенных фузобактерий, кампилобактерий, патогенных клостридий и пастерелл.

В группе 2, выращенной в акватории залива Рауталахти Ладожского озера отмечено высокое содержание представителей нормофлоры, наибольшее содержание лактобацилл среди остальных опытных образцов, высокая доля селеномонад. В данных образцах также отмечено присутствие представителей условно патогенных актинобактерий, энтеробактерий и патогенных фузобактерий, пептококков, наивысшая доля присутствия патогенных кампилобактерий среди остальных групп.

В группах 3 (Крошнозеро) и 4 (озеро Насоновское) отмечено высокое содержание представителей нормофлоры, наибольшая доля присутствия бацилл и наименьшая доля лактобацилл среди остальных опытных образцов кишечника.

Полученные данные необходимы, как для обоснования и широкого применения разнообразных методов исследования в практике пространственного и временного мониторинга за физиологическим состоянием объектов аквакультуры, так и для формирования объективной научной базы с целью установления причинно-следственных закономерностей трансформации микробиома кишечника рыб при заданных внутриводоёмных условиях регионального значения.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE INTESTINAL MICROFLORA OF RAINBOW TROUT, SELECTED FROM VARIOUS FISH HERRY FARMS IN THE REPUBLIC OF KARELIA

Sidorova N.A. [1] – Cand.biol.sc.; **Karpenko L.Yu.** [2] – D. Biol.sc., Professor, **Bakhta A.A.** [2] – Cand.biol.sc., Assoc.; **Savushkin A.I.** [1] – Research Associate; **Nikonov I.N.** [2] – Cand.biol.sc.

[1] Petrozavodsk State University

[2] St. Petersburg State University of Veterinary Medicine.

ABSTRACT

The microbiocenosis of the intestines of fish is represented by the abdominal and parietal microflora, which has complex functional connections with each other and with the intestinal wall. The purpose of the study was to identify the features of the biodiversity of the intestinal intestinal microflora of rainbow trout grown in fish farms in Karelia. The study of intestinal intestinal microflora of rainbow trout was carried out on the basis of fish farms of the Republic of Kazakhstan, geographically located in the water area of 4 reservoirs, characterized by a complex of hydrological, hydrochemical and hydrobiological characteristics. These are the Kondopoga Bay of Lake Onega, the Rautalakhti Bay of Lake Ladoga, Kroshnozero and Lake Nasonovskoye. For statistical processing of the data obtained based on the results of a comparative analysis of the intestinal intestinal microflora of the studied groups of rainbow trout, the compilation of a variation series, the calculation of the average value of the studied trait and the average standard error were used. The object of the study to study the composition of intestinal intestinal microflora was the rainbow trout Parasalmo mykiss (Walbaum, 1792) of the Rofor breed. Microbiological analysis has shown that the qualitative and quantitative variability of the gut microbiome differs depending on the trout growing environment. 14 functional groups of bacteria were identified: cellulolytics, bacilli, lactobacilli, bifidobacteria, selenomonas, actinobacteria, enterobacteria, fusobacteria, peptococci, staphylococci, campylobacteria, pathogenic clostridia, pasteurella and pseudomonas. The proportion of cellulolytics (Eubacteriaceae, Clostridiaceae, Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, Bacteroidetes, etc.) varied from 49.1 to 55.3%; bacilli – from 0.9 to 8.7%, lactobacilli – from 5.0 to 13.7%.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Артамонова В.С., Махров А. А. Популяционная структура семги (Salmo salar L.) и ее изменение под влиянием рыбоводства // Ихтиофауна малых рек и озер Восточного Мурмана: биология, экология, ресурсы. Апатиты: КНЦ РАН, 2005. С. 144–157.

2.Ивантер Э. В. Основы вариационной статистики. Петрозаводск: Петрозавод-

ский государственный университет имени О. В. Куусинена, 1970. 18 с.
3.Маннапова Р. Т. Микробиология. Практикум для выполнения лабораторно-практических работ. М.: Проспект, 2021. 440 с.
4.Определитель бактерий Берджи / Под ред. Дж. Хоулта. М.: Мир, 1997. 444 с.
5.Руководство по ветеринарно-санитарному контролю племенных рыбоводных хозяйств: науч.-практ. изд. 2018. М.: Изд-во ФГБНУ «Росинформагротех», 52 с.
6.Huber I., Spanggaard B., Appel K. F., Rossen L., Nielsen T., Gram L. J. Phylogenetic analysis and in situ identification of the intestinal microbial community of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss, Walbaum) // Appl. Microbiol. 2004. № 96(1):117-32. doi: 10.1046/j.1365-2672.2003.02109. x.
7.Parshukov A.N., Kashinskaya E.N., Simonov E.P., Hlunov O.V., Izvekova G.I., Andree K.B., Solovyev M.M. Variations of the intestinal gut microbiota of farmed rainbow trout, Oncorhyn-chus mykiss (Walbaum), depending on the infection status of the fish // Journal of Applied Microbiology. 2019, V.127, Issue 2. P. 379–395.
8.Pelusio N. F. et al. Effects of increasing dietary level of organic acids and nature-identical compounds on growth, intestinal cytokine gene expression and gut microbiota of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) reared at normal and high temperature //Fish & shellfish immunology. 2020. V. 107. Pt A. P. 324-335.
9.Pond M. J., Stone D. M., Alderman D. J. Comparison of conventional and molecular techniques to investigate the intestinal microflora of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) // Aquaculture. 2006. № 261 (1). P. 194-203.
10.Sehnal L., Brammer-Robbins E., Wonnington A. M., Blaha L., Bisesi J., Larkin I., Martyniuk C. J., Simonin M., Adamovsky O. Microbiome composition and function in aquatic vertebrates: small organisms making big impacts on aquatic animal health // Frontiers in microbiology. 2021. № 12. Article number 567408. DOI: 10.3389/fmicb.2021.567408.
11.Spanggaard B., Huber I., Nielsen J., Nielsen T. The microflora of rainbow trout intestine: A comparison of traditional and molecular identification // Aquaculture. 2000. № 182(1-2). P. 1-15.
12.Vasemagi A., Visse M., Kisand V. Effect of environmental factors and an emerging parasitic disease on gut microbiome of wild salmonid fish // M Sphere. 2017. № 2 (6). Article number e00418-17. DOI: 10.1128/mSphere.00418-17.
13.Zhou C., Yang S., Ka W., et al. Association of Gut Microbiota with Metabolism in Rainbow Trout Under Acute Heat Stress // Frontiers in Microbiology. 2022. № 13. P. 846-856.

REFERENCES

1. Artamonova V.S., Makhrov A. A. The population structure of salmon (Salmo salar L.) and its change under the influence of fish farming // Ichthyofauna of small rivers and lakes of Eastern Murmansk: biology, ecology, resources. Apatity: KSC RAS, 2005. pp. 144-157.
2. Ivanter E. V. Fundamentals of variational statistics. Petrozavodsk: Petrozavodsk State University named after O. V. Kuusinen, 1970. 18 p .
3. Mannapova R. T. Microbiology. A workshop for performing laboratory and practical work. M.: Prospect, 2021. 440 p.
4. The determinant of Bergey bacteria / Edited by J. Hoult. M.: Mir, 1997. 444 p.
5. Guidelines for veterinary and sanitary control of breeding fish farms: scientific and practical ed. 2018. Moscow: Publishing House of the Federal State Budgetary Budgetary Institution "Rosinformagrotech", 52 p.
6.Huber I., Spanggaard B., Appel K. F., Rossen L., Nielsen T., Gram L. J. Phylogenetic analysis and in situ identification of the intestinal microbial community of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss, Walbaum) // Appl. Microbiol. 2004. № 96(1):117-32. doi: 10.1046/j.1365-2672.2003.02109. x.
7.Parshukov A.N., Kashinskaya E.N., Simonov E.P., Hlunov O.V., Izvekova G.I., Andree K.B., Solovyev M.M. Variations of the intestinal gut microbiota of farmed rain-

bow trout, Oncorhyn-chus mykiss (Walbaum), depending on the infection status of the fish // Journal of Applied Microbiology. 2019, V.127, Issue 2. pp. 379-395.
8.Pelusio N. F. et al. Effects of increasing dietary level of organic acids and nature-identical compounds on growth, intestinal cytokine gene expression and gut microbiota of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) reared at normal and high temperature //Fish & shellfish immunology. 2020. V. 107. Pt A. R. 324-335.
9. Pond M. J., Stone D. M., Alderman D. J. Comparison of conventional and molecular techniques to investigate the intestinal microflora of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) // Aquaculture. 2006. No. 261 (1). pp. 194-203.
10.Sehnal L., Brammer-Robbins E., Wonnington A. M., Blaha L., Bisesi J., Larkin I., Martyniuk C. J., Simonin M., Adamovsky O. Microbiome composition and function in aquatic vertebrates: small organisms making big impacts on aquatic animal health // Frontiers in microbiology. 2021. № 12. Article number 567408. DOI: 10.3389/fmicb.2021.567408.
11.Spanggaard B., Huber I., Nielsen J., Nielsen T. The microflora of rainbow trout intestine: A comparison of traditional and molecular identification // Aquaculture. 2000. No. 182(1-2). pp. 1-15.
12. Vasemagi A., Visse M., Kisand V. Effect of environmental factors and an emerging parasitic disease on gut microbiome of wild salmonid fish // M Sphere. 2017. № 2 (6). Article number e00418-17. DOI: 10.1128/mSphere.00418-17.
13.Zhou C., Yang S., Ka W., et al. Association of Gut Microbiota with Metabolism in Rainbow Trout Under Acute Heat Stress // Frontiers in Microbiology. 2022. No. 13. pp. 846-856.

УДК: 619:614.31
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.184

ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИЕ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЯСА ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПРИ СОЧЕТАННОМ ТОКСИКОЗЕ

Сагдеева З.Х. – мл. науч. сотр. сектора по испытанию на микотоксины (ORCID 0000-0002-8670-1742); **Софронова А.В.* –** канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории микотоксинов (ORCID 0000-0002-1188-0627); **Сагдеев Д.Р. –** канд. ветеринар. наук, мл. науч. сотр. лаборатории техногенных экотоксикантов (ORCID 0000-0003-2947-0041); **Матросова Л.Е. –** д-р биол. наук, вед. науч. сотр., зав. лаб. микотоксинов (ORCID 0000-0001-7428-7882); **Танасева С.А. –** канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории микотоксинов (ORCID 0000-0003-1295-6184); **Идрисова Э.И.** – мл. науч. сотр. лаборатории микотоксинов (ORCID 0009-0008-8757-3595).

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»

*anastaciaa349ot116@mail.ru

***Ключевые слова*:** Т-2 токсин, дезоксиниваленол, кадмий, дикват, цыплята-бройлеры, ветеринарно-санитарная экспертиза, корм, сорбент

***Keywords*:** T-2 toxin, deoxynivalenol, cadmium, diquat, broiler chickens, veterinary and sanitary examination, feed, sorbent

Поступила: 31.01.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Увеличение продуктивности животных и птиц, устойчивости к незаразным и инфекционным болезням остается приоритетным направлением в сельскохозяйственном производстве. В настоящее время остро стоит проблема получения экологически чистых кормов для животных и продуктов питания животного происхождения. Основные природные и антропогенные загрязнители кормов и продовольственного сырья – микотоксины, токсичные элементы и пестициды. Важно выделить роль влияния сочетаний природных и антропогенных загрязнителей на живой организм. Микотоксины, токсичные элементы и пестициды, помимо политоксического действия на животных, существенно снижают показатели качества продукции. В данной статье рассмотрены органолептические, физико-химические и микробиологические показатели мяса цыплят–бройлеров при экспериментальном введении природных (Т-2 токсин и дезоксиниваленол) и антропогенных (кадмий и дикват) экотоксикантов на фоне применения модифицированного бентонита. Эксперименты проведены на 40 цыплят-бройлерах, разделенных на 4 группы: 1 группа – биологический контроль, получали основной рацион, 2 группа – токсический контроль (цыплята-бройлеры получали корм, контаминированный микотоксинами, кадмием и дикватом); 3 группа – цыплята-бройлеры получали токсичный корм с модифицирован-

ным сорбентом; 4 группа – контроль безвредности, цыплята-бройлеры с основным рационом получали модифицированный сорбент. Продолжительность эксперимента составила 21 сутки. При оценке органолептических показателей выявлено, что образцы мяса цыплят-бройлеров 1, 3 и 4 группы соответствуют характерным признакам свежего мяса, 2 группы – сомнительной свежести. При оценке физико-химических показателей мяса цыплят второй группы зарегистрировано достоверно повышенное, относительно других групп опыта, значение уровня pH мышечной ткани, увеличение амино-аммиачного азота на 34,9 %, количества летучих жирных кислот, кислотного и перекисного числа в 1,9; 3,4 и 5,0 раз, соответственно. Качественная реакция на пероксидазу при тестировании 1, 3 и 4 образцов мяса цыплят была положительной, во 2 – отрицательной. Зафиксирована обсемененность кокками и палочками мазков-отпечатков поверхностных слоев мышц цыплят-бройлеров второй группы. Органолептические, физико-химические и микробиологические показатели мяса цыплят-бройлеров на фоне применения модифицированного сорбента не имели существенных отличий от показателей группы биологического контроля и соответствовали характерным признакам свежего мяса.

ВВЕДЕНИЕ/INTRODUCTION

Напряженная экологическая ситуация в мире способствует загрязнению продукции и кормов экотоксикантами природного и техногенного происхождения (микотоксины, токсичные элементы и пестициды).

Продукты, содержащие природные и антропогенные загрязнители, приводят к возникновению у людей острых и хронических токсикозов, снижают резистентность организма, вызывают аллергические реакции, нарушают обмен веществ.

На территории Российской Федерации наиболее распространенными являются трихотеценовые микотоксины. Из природных экотоксикантов наиболее токсичным микотоксином является Т-2 токсин, проявляющий иммунотоксичность, репродуктивную токсичность и нейротоксичность. Другим природным загрязнителем является дезоксиниваленол. Дезоксиниваленол поражает иммунную систему, изменяет морфологию и функцию клеток, вызывает цитотоксичность и метаболизм, опосредованных окислительным стрессом.

Антропогенное загрязнение окружающей среды химикатами несет огромную опасность здоровью животных, человека и экологической обстановке. Одним из наиболее опасных и распространенных представителей токсичных элементов является кадмий, блокирующий сульфгидрильные и дисульфидные группы биологических структур, способствующих образованию активных форм кислорода.

В последние годы при выращивании сельскохозяйственных культур широко используют десиканты. Одной из самых перспективных составляющих ассортимента являются препараты на основе диквата, имеющий статус гербицида. Токсичность диквата связана с нарушением баланса между окислительными и антиоксидантными процессами, поражением легких, печени, головного мозга и почек.

Для снижения отрицательного влияния экотоксикантов на здоровье животных, повышения качества и безопасности продуктов питания животного происхождения используются энтеросорбенты различного происхождения [1, 2, 3]. Энтеросорбенты способствуют связыванию токсических веществ и патогенных микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте, после чего выводятся из организма. К веществам, обладающим сорбционной активностью и широко используемые при отравлениях, относят природные алюмосиликатные минералы – бентониты, которые, благодаря своим свойствам и структуре, могут эффективно связывать и выводить ядовитые вещества из организма.

Природные и антропогенные загрязнители (микотоксины, токсичные элементы, пестициды), помимо изменений клинических, морфо-биохимических показателей крови, внутренних органов животных, существенно снижают мясо-молочную,

яичную продуктивность и качество продукции (органолептические, физико-химические и микробиологические показатели) [4-7].

В связи с этим, целью настоящих исследований является проведение органолептических, физико-химических и микробиологических показателей мяса цыплят-бройлеров при воздействии Т-2 токсина, дезоксиниваленола, кадмия и диквата на фоне применения модифицированного сорбента.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объектом исследования являлся модифицированный сорбент, разработанный доктором технических наук, профессором А.В. Канарским и доктором ветеринарных наук Э.И. Семеновым. Модифицированный сорбент получен на основе бентонита Биклянского месторождения РТ, активированного солями цинка и внеклеточных полисахаридов, синтезируемых штаммом 574 бактерий *P. muciliginosus*.

Исследования проводили на 21 дневных цыплятах-бройлерах кросса КОББ-500 – 40 голов, которые были разделены на 4 группы: 1 группа – биологический контроль, получали основной рацион; 2 группа – токсический контроль, цыплята-бройлеры получали контаминированный корм (Т-2 токсин (120 мкг/кг корма)), дезоксиниваленол (500 мкг/кг корма), кадмий (450 мкг/кг корма) и гербицид дикват (110 мкг/кг корма)); 3 группа получала токсичный корм с модифицированным сорбентом; 4 группа получала основной рацион и модифицированный сорбент. Модифицированный сорбент вводили в дозе 0,5 % от рациона, один раз в сутки. Продолжительность эксперимента 21 сутки. Моделировали сочетанный токсикоз с использованием доз экотоксикантов, вызывающих проявление клинических признаков при отсутствии падежа цыплят-бройлеров.

Убой цыплят-бройлеров проводили в возрасте 41 суток. Ветеринарно-санитарную экспертизу охлажденных тушек и мяса цыплят-бройлеров при сочетанном токсикозе на фоне применения модифицированного сорбента провели через 24 ч после убоя. При органолептическом исследовании руководствовались ГОСТ Р 51944-2002 [8]. Физико-химические исследования по ГОСТ 31470 -2012 [9] (определение количества летучих жирных кислот, кислотного и перекисного числа жира, качественный тест на активность пероксидазы), ГОСТ Р 51478-1999 [10] (определение концентрации водородных ионов (pH)). Накопление в мясе аминокислот и аммиака (аминоаммиачный азот) определяли по А.М. Софронову [11]. Микроскопический анализ (микроскопия мазков-отпечатков с поверхностных и глубоких слоев мышц) проводили по ГОСТ 31931–2012 [12]. Определение количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов по ГОСТ 7702.2.1-2017 [13], наличие патогенных микроорганизмов по ГОСТ 31468-2012 [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ/RESULTS

При органолептическом методе исследования проводили определение: запаха, внешнего вида и цвета поверхности тушки, подкожной и внутренней жировой ткани, серозной оболочки грудобрюшной полости; консистенции и состояния мышц на разрезе и качества бульона. Каждый образец анализировали отдельно.

Спустя 24 ч после убоя охлажденное мясо цыплят-бройлеров первой, третьей и четвертой групп оставалось беловато-желтого цвета с розовым оттенком, со специфическим свойственным свежему мясу запахом.

Бедренные мышцы красноватого оттенка, грудные мышцы бледно-розового цвета. Подкожный и внутренний жир – бледно-желтого цвета, со специфическим, свойственным свежему мясу птицы, запахом.

Серозная оболочка грудобрюшной полости влажная, блестящая. Мышцы плотные, упругие, при надавливании пальцем образующаяся ямка выравнивается в течение нескольких секунд. Мышцы на разрезе бледно-розового цвета, слегка влажные, но не оставляющие влажного пятна на фильтровальной бума-

ге. После проведения пробы варкой определяли прозрачность и аромат бульона. Бульон от образцов мяса цыплят-бройлеров этих групп был прозрачный и ароматный. По органолептическим показателям образцы первой, третьей и четвертой групп цыплят-бройлеров имели признаки, характерные для свежего мяса, полученного от здоровой птицы.

При оценке органолептических показателей мяса цыплят-бройлеров токсического контроля, выявлены отклонения от нормы свежего мяса в виде изменения консистенции (при надавливании пальцем образующаяся ямка выравнивалась в течение минуты) и кисловатого запаха глубоких слоев мышц. Поверхность мяса была слегка липкой и влажной в группе, получавшей микотоксины, токсичный элемент и пестицид. Бульон образца 2 группы имел видимые отличия (мутноватый, легким неприятным запахом) по сравнению с образцами бульона остальных групп. По органолептическим показателям мясо сомнительной свежести.

Следующим этапом было проведение физико-химических исследований, результаты которых представлены в таблице 1.

Определение концентрации водородных ионов мяса свидетельствует о физиологическом состоянии птицы перед убоем (концентрация водородных ионов и гликогена в мышцах). Уровень pH мышечной ткани птиц второй группы был достоверно выше аналогичного показателя 1-ой, 3-ей и 4-ой групп ($p<0,05$). Это может свидетельствовать о низком содержании гликогена в мышечной ткани птиц и низкой активности внутримышечных ферментов, участвующих в процессе созревания мяса, в виду чего снижение pH мышечной ткани птиц 2-ой группы происходило не так интенсивно, как в мышечной ткани 1-ой, 3-ей и 4-ой групп.

Бензидиновый тест на пероксидазу был положительным при тестировании мяса цыплят-бройлеров первой, третьей и четвертой группы. Вытяжка мяса приобрела сине-зеленый цвет, переходящий в течение 1-2 минут в буро-коричневый цвет. При тестировании образов мяса птиц второй группы, окрашивание вытяжки было сразу буро-коричневым, что является признаком несвежего мяса («Бензидиновый тест на пероксидазу - отрицательный»).

Количество летучих жирных кислот в мясе цыплят-бройлеров второй группы было выше в 1,9 раза ($p<0,001$). Кислотное и перекисное число превышали показатели группы биологического контроля в 3,4 и 5,0 раз ($p<0,001$), соответственно.

Таблица 1 – Физико-химические показатели мяса цыплят-бройлеров при сочетанном токсикозе

Показатель	Группа			
	1	2	3	4
pH	5,7±0,1	6,1±0,4*	5,8±0,1	5,6±0,2
Количество летучих жирных кислот (ЛЖК), мг КОН/г	3,9±0,02	7,3±0,04***	4,0±0,02	3,9±0,03
Кислотное число жира, мг КОН/г	0,7±0,03	2,4±0,09***	0,8±0,04	0,8±0,03
Перекисное число жира, % йода	0,008±0,01	0,04±0,07***	0,009±0,01	0,009±0,01
Амино-аммиачный азот, мг	1,29±0,01	1,74±0,05***	1,28±0,02	1,29±0,03

** $p<0,05$; *** $p<0,001$*

В мясе птицы 2 группы содержание амино-аммиачного азота составило 1,74 мг, что превышало показатели биологического контроля на 34,9 % ($p<0,001$). В остальных исследуемых пробах мяса цыплят-бройлеров концентрация веществ ниже, что говорит о свежести исследуемого мяса.

Физико-химические показатели мяса 3 и 4 опытных групп не имеют существенных отличий по сравнению с показателями биологического контроля, а также соответствуют признакам доброкачественного мяса, что свидетельствует о положительном влиянии модифицированного сорбента на сохранение качеств мяса птицы.

Исследование микробиологических показателей мяса цыплят-бройлеров также имеет значение в ветеринарно-санитарной оценке продуктов питания. При изучении мазков-отпечатков с поверхностных слоев мышц 2 группы зафиксирована обсемененность кокками и палочками (более 30). Во всех остальных образцах отмечались единичные бактерии (не более 10). При просмотре мазков-отпечатков из глубоких слоев мышц во 2 группе обнаружены единичные кокковидные и палочковидные бактерии (не более 10), в мазках-отпечатках из глубоких слоев мышечной ткани остальных групп опыта бактериальная микрофлора не обнаружена.

Количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) в образцах всех групп находилось в пределах $1,8x10^4$-$1,6x10^2$ КОЕ/г. Патогенных микроорганизмов, в том числе листерии и сальмонеллы, ни в одном образце мяса цыплят-бройлеров обнаружено не было.

ВЫВОДЫ/CONCLUSION

Ограничивающим фактором производства продукции животноводства и птицеводства является загрязнение кормов токсикантами природного и антропогенного происхождения. При токсикозах приоритетным направлением остается вопрос применения эффективных профилактических средств.

В ходе проведенных исследований было установлено, что мясо цыплят-бройлеров, рацион которых содержал Т-2 токсин, дезоксиниваленол, кадмий, дикват и модифицированный сорбент имеет органолептические, физико-химические и микробиологические показатели, характерные для доброкачественного мяса, полученного от здоровой птицы. Достоверной разницы между исследуемыми показателями мяса 1-ой, 3-ей и 4-ой групп не наблюдалось. Отсутствие признаков отрицательного воздействия токсинов на организм птиц в органолептических, физико-химических и микробиологических показателях позволяет сделать вывод об эффективности применения модифицированного сорбента при сочетанном токсикозе.

ORGANOLEPTIC, PHYSICO-CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL PARAMETERS OF BROILER CHICKEN MEAT IN CASE OF COMBINED TOXICOSIS

Sagdeeva Z.Kh. – Junior Researcher, Mycotoxin Testing Sector (ORCID 0000-0002-8670-1742), **Sofronova A.V**.* – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Mycotoxins (ORCID 0000-0002-1188-0627), **Sagdeev D.R.** – Candidate of Veterinary Sciences Junior Researcher, Laboratory of Technogenic Ecotoxicants (ORCID 0000-0003-2947-0041), **Matrosova L.E**. – Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher, Head of the Laboratory of Mycotoxins (ORCID 0000-0001-7428-7882), **Tanaseva S.A. –** Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher, Laboratory of Mycotoxins (ORCID 0000-0003-1295-6184), **Idrisova E.I.** – Junior Researcher, Laboratory of Mycotoxins (ORCID 0009-0008-8757-3595).

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety

*anastaciaa349ot116@mail.ru

ABSTRACT

Increasing the productivity of animals and birds, resistance to non-infectious and infectious diseases remains a priority in agricultural production. Currently, the problem of obtaining environmentally friendly animal feed and food of animal origin is acute. The main natural and anthropogenic pollutants of feed and food raw materials are mycotoxins, toxic elements and pesticides. It is important to highlight the role of the influence of combinations of natural and anthropogenic pollutants on a living organism. Mycotoxins, toxic elements and pesticides, in addition to their polytoxic effect on animals, significantly reduce product quality indicators. This article examines the organoleptic, physico-chemical and microbiological parameters of broiler chicken meat during the experimental introduction of natural (T-2 toxin and deoxynivalenol) and anthropogenic (cadmium and diquat) ecotoxicants against the background of the use of modified bentonite. Experiments were conducted on 40 broiler chickens divided into 4 groups: group 1 - biological control, received the basic diet, group 2 – toxic control (broiler chickens received food contaminated with mycotoxins, cadmium and diquat); group 3 – broiler chickens received toxic feed with a modified sorbent; group 4 – control due to the harmlessness, broiler chickens with a basic diet received a modified sorbent. The duration of the experiment was 21 days. When assessing the organoleptic parameters, it was revealed that the meat samples of broiler chickens of groups 1, 3 and 4 correspond to the characteristic features of fresh meat, groups 2 – of questionable freshness. When evaluating the physico-chemical parameters of chicken meat of the second group, a significantly increased value of the pH level of muscle tissue, an increase in amino-ammonia nitrogen by 34.9%, the amount of volatile fatty acids, acid and peroxide numbers by 1.9, 3.4 and 5.0 times, respectively, was recorded relative to other experimental groups. The qualitative reaction to peroxidase in testing 1, 3 and 4 samples of chicken meat was positive, in 2 – negative. The contamination with cocci and sticks of smears-prints of the surface layers of the muscles of broiler chickens of the second group was recorded. The organoleptic, physico-chemical and microbiological parameters of broiler chicken meat against the background of the use of a modified sorbent did not differ significantly from those of the biological control group and corresponded to the characteristic features of fresh meat.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Капитонова, Е.А. Влияние нового адсорбента микотоксинов на мясную продуктивность цыплят-бройлеров / Е.А. Капитонова / Международный вестник ветеринарии. - 2021. - № 3. - С.121-125. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=46703889

2.Тарасова, Е. Ю. Изучение сорбционной активности нанотрубок галлуазита по отношению к зеараленону и охратоксину А / Е. Ю. Тарасова // Вестник Марийского государственного университета. Серия: Сельскохозяйственные науки. Экономические науки. – 2021. – Т. 7. - № 1(25). – С. 64-70. DOI: 10.30914/2411-9687-2021-7-1-64-69. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=46699727

3.Сравнительная оценка адсорбирующей активности дрожжей по отношению к микотоксинам / Э.И. Семенов, Л.Е. Матросова, Е.Ю. Тарасова [и др.] // Вестник Казанского технологического университета. - 2013. - Т. 16. - №10. - С. 195-197. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=19395537

4.Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса цыплят-бройлеров при использовании в кормах четырехкомпонентного сорбента на фоне микотоксикоза / Н.Н. Мишина, Э.И. Семенов, А.В. Маланьев [и др.] // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. - 2023.- № 2 (46). - С. 174-179. DOI: 10.36871/vet.san.hyg.ecol.202302007. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=54139696

5.Оценка качества мяса овец при Т-2 микотоксикозе на фоне применения антиоксидантов / Э. К. Папуниди, В. П. Коростелева, Е. Ю. Тарасова [и др.] // Мясная

индустрия. – 2014. – № 5. – С. 48-49. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=21533229
6.Папуниди, Э. К. Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса овец при остром и подостром Т-2 микотоксикозе на фоне применения лекарственных средств / Э. К. Папуниди, М. Я. Тремасов, Е.Ю. Тарасова // Ветеринарный врач. – 2010. – № 2. – С. 21-23. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=14869519
7.Влияние биологически активных веществ и сорбента на ветеринарно-санитарное качество мяса при контаминации кормов кадмием / С.Н. Потапова, И.Р. Кадиков, Е.И. Куршакова [и др.] // Вестник Марийского государственного университета. Серия: Сельскохозяйственные науки. Экономические науки. – 2023. – Т.9. - № 2(34). – С.178-183. – DOI: 10.30914/2411-9687-2023-9-2-178-183.
Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54269205
8.ГОСТ Р 51944-2002. Мясо птицы. Методы определения органолептических показателей, температуры и массы. [Электронный ресурс]. – М.: Стандартинформ. – 6 с.
9.ГОСТ 31470-2012. Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы органолептических и физико-химических исследований [Электронный ресурс]. – М.: Стандартинформ. –41 с.
10.ГОСТ Р 51478-1999. Мясо и мясные продукты. Контрольный метод определения концентрации водородных ионов (pH) [Электронный ресурс]. – М.: Стандартинформ. – 4 с.
11.Макаров, В.А. Практикум по ветеринарно-санитарной экспертизе с основами технологии продуктов животноводства: Учебник для ВУЗОВ / В.А. Макаров, М.Ф. Боровков, А.П. Ермолаев [и др.]. – М.: ВО «Агропромиздат», 1987. - 271 с.
12.ГОСТ 31931–2012. Мясо птицы. Методы гистологического и микроскопического анализа [Электронный ресурс]. – М.: ИПК Издательство стандартов. – 8 с.
13.ГОСТ 7702.2.1-2017. Продукты убоя птицы, продукция из мяса птицы и объекты окружающей производственной среды. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов [Электронный ресурс]. – М.: Стандартинформ. – 6 с.
14.ГОСТ 31468-2012 "Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Метод выявления сальмонелл" [Электронный ресурс]. – М.: Стандартинформ. – 10 с.

REFERENCES

1.Kapitonova, E.A. The influence of a new mycotoxin adsorbent on the meat productivity of broiler chickens / E.A. Kapitonova / International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2021. - № 3. - P. 121-125. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=46703889 (In Russ.)
2.Tarasova, E. Yu. Study of the sorption activity of halloysite nanotubes in relation to zearalenone and ochratoxin A / E. Yu. Tarasova // Bulletin of the Mari State University. Series: Agricultural Sciences. Economic Sciences. – 2021. – T. 7. - №.1 (25). – P. 64-70. DOI: 10.30914/2411-9687-2021-7-1-64-69. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=46699727 (In Russ.)
3.Comparative assessment of the adsorbing activity of yeast in relation to mycotoxins / E.I. Semenov, L.E. Matrosova, E.Yu. Tarasova [et al.]. // Bulletin of Kazan Technological University. - 2013. - T. 16. - № 10. - P. 195-197. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=19395537
4.Veterinary and sanitary examination of broiler chicken meat when using a four-component sorbent in feed against the background of mycotoxicosis / N.N. Mishina, E.I. Semenov, A.V. Malanev [et al.] // Russian Journal of Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology. - 2023. - № 2 (46). - P 174-179. DOI: 10.36871/vet.san.hyg.ecol.202302007.URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=54139696 (In Russ.)
5.Assessment of the quality of sheep meat with T-2 mycotoxicosis against the background of the use of antioxidants / E. K. Papunidi, V. P. Korosteleva, E. Yu. Tarasova [et al.] // Meat industry. – 2014. – № 5. – P. 48-49. URL: https://elibrary.ru/item.asp?

id=21533229 (In Russ.)
6.Papunidi, E. K. Veterinary and sanitary examination of sheep meat with acute and subacute T-2 mycotoxicosis during the use of drugs / E. K. Papunidi, M. Ya. Tremasov, E. Yu. Tarasova // Veterinary doctor. – 2010. – № 2. – P. 21-23. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=14869519 (In Russ.)
7.The influence of biologically active substances and sorbent on the veterinary and sanitary quality of meat when feed is contaminated with cadmium / S.N. Potapova, I.R. Kadikov, E.I. Kurshakova [et al.] // Bulletin of the Mari State University. Series: Agricultural Sciences. Economic Sciences. – 2023. – T.9. - № 2(34). – P. 178-183. – DOI: 10.30914/2411-9687-2023-9-2-178-183.
URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54269205 (In Russ.)
8.GOST R 51944-2002. Poultry meat. Methods for determining organoleptic indicators, temperature and mass. [Electronic resource]. –M.: Standardinform. – 6 p. (In Russ.)
9.GOST 31470-2012. Poultry meat, offal and semi-finished poultry meat products. Methods of organoleptic and physical-chemical research [Electronic resource]. – M.: Standardinform. - 41 p.
10.GOST R 51478-1999. Meat and meat products. Control method for determining the concentration of hydrogen ions (pH) [Electronic resource]. –M.: Standardinform. – 4 p.
11.Makarov, V.A. Workshop on veterinary and sanitary examination with the basics of technology of livestock products: Textbook for Universities / V.A. Makarov, M.F. Borovkov, A.P. Ermolaev [et al.]. – M.: VO "Agropromizdat", 1987. - 271 p.
12.GOST 31931–2012. Poultry meat. Methods of histological and microscopic analysis [Electronic resource]. –M.: IPK Publishing House of Standards. – 8 p. (In Russ.)
13.GOST 7702.2.1-2017. Poultry slaughter products, poultry meat products and environmental objects. Methods for determining the number of mesophilic aerobic and accultative anaerobic microorganisms [Electronic resource]. –M.: Standardinform. – 6 p.
14.GOST 31468-2012 "Poultry meat, offal and semi-finished products from poultry meat. Method for detecting salmonella" [Electronic resource]. –M.: Standardinform. – 10 p.

УДК: 619:574.3
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.192

ВЛИЯНИЕ ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ НА ИХТИОФАУНУ ЛАДОЖСКОГО ОЗЕРА И МЕРЫ ПРОФИЛАКТИКИ

Романов А.Ю. * – специалист лаборатории рыбохозяйственной экологии; **Аршаница Н.М.** – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории рыбохозяйственной экологии; **Колосовская Е.В.** – вед. специалист лаборатории рыбохозяйственной экологии; **Аникина В.В.** – ст. специалист лаборатории рыбохозяйственной экологии; **Гребенников В.А.** – специалист лаборатории рыбохозяйственной экологии.

Санкт-Петербургский филиал Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии («ГосНИОРХ» им.Л.С. Берга»)

*negan94@yandex.ru

Ключевые слова: *Ладожское озеро, южная акватория, ихтиофауна, воспроизводство, загрязнение, токсикоз, литоральная зона, профилактика*
Keywords: *Lake Ladoga, southern water area, ichthyofauna, reproduction, toxicosis, pollution, littoral zone, prevention*

Поступила: 25.01.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ
Ладожское озеро – крупнейший водоем Европы с огромными запасами питьевой воды, имеет особо важное санитарно-гигиеническое значение для Северо-Западного региона России. Озеро также имеет существенное рыбохозяйственное значение – годовые уловы достигали 6000т. в год. Однако за последние несколько десятилетий рыбохозяйственный статус водоема существенно изменился запасы и уловы наиболее ценных видов рыб резко снизились в результате антропогенного воздействия – загрязнения и эвтрофирования. Химико-аналитические исследования проб воды, донных отложений, атмосферных осадков и рыб на металлы выполнены в лаборатории рыбохозяйственной экологии Санкт-Петербургского филиала ФГБНУ «ВНИРО» («ГосНИОРХ» им. Л.С. Берга») на атомно-абсорбционном спектрофотометре АА – 7000 (Shimadzu) по утвержденным методикам (ПНДФ.,2010; М02-2406., 2013 и М02-902-125, 2005), и в исследовательской лаборатории продуктов питания и объектов природы «АНАЛЭКТ» института Минздрава РФ, методом атомно-абсорбционной спектрометрии по утвержденным методикам. Гидрохимические и гидрологические показатели определялись с помощью автоматического многопараметрического зонда Aqua TROLL 500. Наиболее ценная в рыбохозяйственном отношении южная акватория озера оказалась наиболее уязвимой к токсическому воздействию. Загрязнение нерестилищ, поражение рыб токсикозом, нарушение естественного воспроизводства в сочетании с гидрологическими особенностями водоема привели к необратимым до сих пор преобразованиям в структуре ихтиофауны в целом для всего озера. Выраженные последствия для ихтиофауны водоема связаны с чувствительностью

рыб к загрязняющим веществам, их способностью накапливать патологическую информацию в течение продолжительного жизненного цикла. Гидрологические особенности южной акватории Ладожского озера в сочетании с размещением источников загрязнения и путями поступления загрязняющих веществ, затрудняют проведение профилактических мероприятий на этой наиболее важной в рыбохозяйственном отношении акватории.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Рост численности населения в планетарном масштабе, развитие промышленности, интенсификация сельского хозяйства и успехи прикладной химии явились причиной глобального экологического кризиса с чертами неуправляемости процесса [1].

Токсикологический фактор стал доминирующим и наиболее опасным для пресноводных водоемов. Эта проблема стала актуальной и для России, и весьма значимой для северо-западного региона страны, и в частности для Ладожского озера с огромным запасом пресной воды - 838 км^3. Площадь озера составляет 17678км^2, с территорией водосбора 258,6 тыс. км^2, на которой расположены 48 тысяч рек и речек общей протяженностью 126 тыс. км. Вместе с водостоком, с водосбора в озеро выносятся различные загрязняющие вещества и биогены. Ладожское озеро относится к глубоководным водоемам, максимальная глубина достигает 230 метров, средняя – 46,9 м.

Смена воды в озере происходит один раз в 11 лет [2]. Нерест, нагул и вылов основных видов рыб происходят в мелководной южной части озера, включающей три губы: Шлиссельбургскую, Волховскую и Свирскую, где находится обширная литеральная зона с глубинами до 8,4м, площадь которой 2543км^2, а объем водной массы всего 9,67 км^3, тогда как площадь озера 17678км^2, а объем воды 838км^3 [3]. Исходя из этих данных, следует, что площадь литеральной зоны в 7 раз меньше площади озера, тогда как объем воды меньше в десятки раз - 83 раза. Отсюда следует, что поступление загрязняющих веществ различными путями - аэрогенным, с загрязненным поверхностным стоком и сточными водами, создают высокий уровень загрязнения, что выраженно сказывается на биоте этой акватории, которая имеет особо важное рыбохозяйственное значение.

Загрязнение озера началось с конца 60 -х годов прошлого столетия и стало быстро нарастать по мере развития промышленности и сельского хозяйства на территории водосбора, что привело к мощному токсическому и биогенному воздействию на водоем, выраженно сказавшись на всех звеньях экосистемы озера, особенно на рыбах, что показали комплексные исследования 80-х годов прошлого столетия, и озеро из типично олиготрофного водоема приобрело черты мезотрофности на некоторых акваториях, что было вызвано как воздействием загрязняющих веществ, так и антропогенного эвтрофирования [4].

Следует особо отметить, что регион водосбора озера характеризуется высоким уровнем экономического развития с концентрацией производства выше общероссийского и таким образом озеро аккумулирует все негативные последствия промышленности и сельского хозяйства [5]. Токсикозы рыб приобрели массовый характер с нарушением процесса их воспроизводства, что особенно пагубно сказалось на наиболее ценных видах – сигах и лососях, как наиболее чувствительных к основным типам загрязнения водоемов [6,7]. Последующие исследования также показали нарушение воспроизводства разных видов рыб на акватории южной части озера [8], что особенно выражено проявлялось в Волховской губе и р. Волхов [9,10]. Исследования в Волховской губе дали возможность оценить значимость металлов в загрязнении акватории и их воздействия на рыб, среди которых была выявлена ртуть в действующих концентрациях [11].

Исследование атмосферных осадков дало возможность оценить значимость поступления металлов этим путём [12,13]. Оказалось, что мощным источником поступления загрязняющих веществ в озеро являются загрязнённые воды реки Вол-

хов, среди которых были металлы [14]. Так, река Волхов в течение года выносит в Волховскую губу и далее в озеро 19200 т. железа, 4193 т. алюминия, 2300т. марганца, 145т. меди, 90т. кобальта, 49т. свинца, 248т. цинка и так далее [15], также много других токсикантов, учитывая профиль промышленных предприятий г.г. Великого Новгорода, Кириши и Волхова.

Нарушение естественного воспроизводства рыб, особенно ценных видов, выраженно сказалось на их запасах и уловах и привело к перестройке структуры их ихтиофауны в озере в целом. Так, по данным Института озероведения Академии наук Российской Федерации, уже в новом тысячелетии сократился общий объём вылова рыбы. Резко снизилась численность озёрного лосося, озёрной форели, палии, озёрно-речных сигов, которые потеряли былое промысловое значение. И озеро из лососево-сигового водоёма стало превращаться в корюшко-ряпушковый - в озере стали преобладать рыбы с коротким жизненным циклом [2,5,16].

Выраженное воздействие загрязняющих веществ на ихтиофауну сказалось не только на организменном, но и на популяционном уровне в южной акватории озер, что явилось следствием сочетания гидрологических особенностей акватории и воздействием загрязняющих веществ, поступающих различными путями.

Как показано выше, в южной части озера расположена обширная акватория литеральной зоны, которая имеет особое важное рыбохозяйственное значение, как место нереста и нагула молоди рыб [1,5,17,18,19,20]. В создавшихся условиях, как показано нами, эта акватория оказалась чрезвычайно уязвимой к токсическому воздействию как в прошлом, так и в настоящее время. По мнению специалистов-биологов, исследование литорали больших глубоководных озёр, к которым относится Ладожское озеро, особенно важно, так как литеральная зона наиболее подвержена антропогенному воздействию по сравнению с водной массой пелагиали, и первый испытывает это воздействие, которое сказывается на гидробионтах.

Всё это указывает на индикаторную роль литорали и в оценке экологического состояния озера в целом, что показано на состоянии зоопланктона и зообентоса [25]. С чем нельзя не согласиться, так как концентрация вредных веществ здесь будет несравненно выше по сравнению с огромными водными массами глубоководной части озера, где степень разбавления загрязняющих веществ очень высока. Таким образом анализ литературных источников показывает большую значимость этой акватории в рыбохозяйственном отношении и её уязвимость к антропогенному воздействию, что показано на примере различных представителей биоты, за исключением ихтиофауны. Учитывая это, целью наших исследований была ихтиофауна, которая является признанным индикатором качества вод с рыбохозяйственных позиций. Исследования были проведены на южной акватории озера и имели профилактическую направленность на разработку научно-обоснованных мероприятий для нормализации токсикологического режима и структуры ихтиофауны в озере.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проведены в различные сезоны в период 2020-2023 годов на южной акватории Ладожского озера, включая Шлиссербургскую, Волховскую, Свирскую губы с обширными литеральными зонами. Производился массовый отлов различных видов и возрастных групп рыб, включая личинок.

Использовались различные орудия лова. Оценка патологоэнтомического и патологоморфологического состояния рыб проводилась с использованием общепринятых методик [26,29,30]. Отловлено и исследовано около тысячи экземпляров рыб и более пяти тысячи личинок. Атмосферные осадки (дождь) неоднократно отбирались на трех прибрежных участках южного побережья Ладожского озера. Там же отбирались и пробы воды в озере. Биотестирование проб воды, донных отложений и атмосферных осадков проводили по общепринятым методикам в

остром и хроническом экспериментах (ФР.1.39.2007.03.222).

Химико-аналитические исследования проб воды, донных отложений, атмосферных осадков и рыб на металлы выполнены в лаборатории рыбохозяйственной экологии Санкт-Петербургского филиала ФГБНУ «ВНИРО» («ГосНИОРХ» им. Л.С. Берга») на атомно-абсорбционном спектрофотометре АА – 7000 (Shimadzu) по утвержденным методикам (ПНДФ.,2010; М02-2406., 2013 и М02-902 -125, 2005), и в исследовательской лаборатории продуктов питания и объектов природы «АНАЛЭКТ» института Минздрава РФ, методом атомно-абсорбционной спектрометрии по утвержденным методикам. Гидрохимические и гидрологические показатели определялись с помощью автоматического многопараметрического зонда Aqua TROLL 500.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

По результатам патологоанатомического исследования рыб южной акватории озера независимо от сезона года, отмечалось поражение рыб токсикозом, протекающим хронически и наиболее массово в литоральной зоне на всех обследованных акваториях, но особенно выраженно в Волховской губе. [21,22,23,24]. Признаки токсикоза более четко наблюдались у рыб старших возрастных групп и хищников. Поражение было связано с нарушением гемодинамики, патологические проявления токсикоза наиболее часто и четко наблюдались в таких органах, как жабры, печень, почки, реже в головном мозге. Проведённое патологоанатомическое исследование рыб на трёх акваториях южной части озера за пределами литеральной зоны показало, что и на этих акваториях рыбы поражены токсикозом (Таблица 1), что связано с выносом загрязняющих веществ из прибрежной зоны.

Сопоставляя полученные результаты с аналогичными, полученными на литоральных акваториях, следует отметить проявление симптомов хронического токсикоза с аналогичными проявлениями патологического процесса, но менее выраженного и менее массовым проявлением у корюшки и ряпушки. Поражение рыб токсикозом за пределами литоральной зоны связано с наличием гидродинамического воздействия и постоянными турбулентными и конвективными перемещениями воды за пределы литоральной зоны - выносом загрязняющих веществ в озеро [24].

Сопоставляя результаты исследований с восьмидесятыми годами прошлого столетия и более поздними, необходимо отметить некоторое снижение массовости поражения рыб и более слабую выраженность патологического процесса [7,9]. Проведенное нами патоморфологическое исследование рыб показало, что гистоморфологические нарушения во внутренних органах рыб носят массовый характер и являются выраженным проявлением воздействия токсикологического фактора на ихтиофауну, что в целом указывает на значительный уровень загрязнения среды обитания рыб [22].

Исследования показали выраженное проявление токсикоза в различных органах рыб. В жаберной ткани наблюдали изменения структурных элементов от лепесточков до капиляров. В печени рыб отмечали дистрофические процессы, жировое перерождение, иногда с очагами некроза. В почках были обнаружены очаговые и различные кровоизлияния, зернистая дистрофия. Проявления токсикоза отмечали и в тканях головного мозга, хотя она менее реактивна по сравнению с тканями других органов. Эти исследования показали, что патоморфологические проявления хронического токсикоза отмечены у рыб и за пределами литеральной зоны, но они более чётко проявлены у туводных рыб литеральной зоны.

Проведённые нами исследования личинок на трёх участках литеральной зоны показали их массовое и выраженное поражение токсикозом [23]. Отлов личинок разных видов рыб и их визуальное исследование дало возможность определить процент поражённых личинок по акваториям. Самый высокий процент поражён-

ных токсикозом личинок выявлен в Волховской губе и в зависимости от размещения источника загрязнения он колебался от 40 до 70 %. В Шлиссельбургской и Свирской губах процент визуального поражения личинок был в пределах 30 % от числа исследованных. На всех акваториях повреждения личинок носили однотипный характер - повреждение костной ткани, искривление позвоночника, деформация головы, изменение окраски тела, пучеглазие, анемия, брюшная водянка и пр. Были обнаружены погибшие особи, особенно в Волховской губе, на акваториях, тяготящих к источнику загрязнения - место сброса сточных вод с Сяського ЦБК, близ устья реки Волхов. Выявленные патологии касались различных видов рыб, кроме лосося и сигов, которые наиболее чувствительны к основным типам загрязнения водоемов, включая период раннего онтогенеза [6]. Это связано не только с чувствительностью данных рыб, а также с длительным инкубационным периодом, что является основной причиной резкого снижения запасов этих рыб в озере.

Исследование атмосферных осадков на трёх акваториях южного побережья озера показало значимость поступления загрязняющих веществ аэрогенным путём. Это весьма пагубно для мелководной литоральной зоны, для всех звеньев биоты, но особенно для рыб и прежде всего для их воспроизводства. Исследование атмосферных осадков на содержание металлов показало их наличие в колеблющихся концентрациях от величин ПДК до их превышения в десятки и более раз [24]. Однако биотестирование проб во всех случаях показало их острую токсичность, включая пробы, где содержание металлов было низким и не могло быть причиной острой токсичности. Это указывало на наличие в пробах токсикантов органической природы и их особую опасность для мелководной литеральной зоны, и особенно пагубно влияющих на воспроизводство рыб - основу сохранения вида, популяции и структуры ихтиоциноза в целом. По нашим данным, можно полагать, что именно загрязнение литоральной зоны явилось основной причиной резкого снижения запасов в озере лосося и особенно сигов. И это несмотря на функционирование Волховского рыбоводного завода, водоснабжение которого осуществляется с акватории, имеющей высокий уровень загрязнения, что выраженно сказывается на состоянии потомства со случаями массовой гибели инкубируемой икры и личинок [27].

Биотестирование проб воды и донных

Таблица 1 – Результаты патологоанатомического исследования рыб Южной акватории Ладожского озера за пределами литоральной зоны (2023 г.)

Акватория вылова рыб (станции)	Виды рыб	Количество исследованных рыб	Оценка состояния рыб		
			Процент поражения токсикозом	Степень выраженности токсикоза в баллах	Количество экземпляров по баллам
1. Свирская губа	корюшка	20	30	2,0	2,0-6
	ряпушка	10	20	2,0	2,0-2
	ерш	10	40	2,0	2,0-4
	окунь	10	40	2,0	2,0-4
	судак	10	40	2-3	2,0-2;3,0-2
2. Волховская губа	корюшка	20	30	2-3,0	2,0-3; 3,0-3
	ряпушка	10	20	2,0	2,0-2
	ерш	10	40	2-3,0	2,0-1; 3,0-3
	окунь	10	40	2-3,0	2,0-2;3,0-2
	судак	10	40	2-3,0	2,0-2; 3,0-2
3.Шлиссельбургская губа	лещ	10	30	2-3,0	2,0-1;3,0-2
	окунь	10	30	2-3,0	2,0-2;3,0-1
	судак	10	40	2-3,0	2,0-2;3,0-2
	корюшка	10	30	2,0	2,0-3

отложений показало лишь хроническую токсичность, и этот метод оценки уровня загрязнения оказался менее эффективным по сравнению с рыбами, что связано с гидрологическими особенностями исследуемой акватории и одномоментностью взятия пробы. Содержание металлов в воде и донных отложениях также было низким и связано с теми же факторами, что сказались при биотестировании. Гидрохимические исследования на всех акваториях не выявили существенных отклонений от нормы. Рассматривая результаты исследования рыб как индикаторных организмов качества вод в южной акватории Ладожского озера, нельзя не согласиться с мнением специалистов экологов-токсикологов, что рыбы приобретают все большее значение в этом качестве, и особое значение имеет такой показатель, как воспроизводство. Именно реакция рыб на действие токсикологического фактора дает возможность в условиях южной акватории Ладожского озера, объяснить причину структурной перестройки их ихтиофауны в озере [7,18,28]. В условиях мелководных зон озера это связано с гидрологическими особенностями в местах нереста рыб, уровнем загрязнения и чувствительностью рыб к различным типам загрязнения, с пролонгированными последствиями, особенно в период раннего онтогенеза. Анализируя результаты проведенных исследований, необходимо отметить, что наиболее высокий уровень загрязнения отмечен в Волховской губе, а Шлиссельбургская и Свирская губы загрязнены в меньшей степени.

ВЫВОДЫ/ CONCLUSION

Исследования, проведённые на акватории южной части Ладожского озера, имеющей особо важное рыбохозяйственное значение, показали, что и в настоящее время здесь отмечается неблагоприятный токсический режим, оказывающий выраженные воздействия на ихтиофауну и ее воспроизводство, особенно значимо проявляющийся в литеральной зоне. Наиболее информативными индикаторами уровня загрязнения оказались рыбы, особенно в период раннего онтогенеза.

Основными путями поступления загрязняющих веществ оказались сточные воды, загрязненный поверхностный сток и их аэрогенное поступление, особенно действенное в условиях литоральной зоны. Нарушение естественного воспроизводства рыб явилось основной причиной изменения структуры рыбного населения озера, как количественного, так и качественного характера. Произошла смена доминантных видов рыб. Основная роль стала принадлежать рыбам с коротким жизненным циклом (корюшка, ряпушка). Определена закономерная зависимость между уровнем загрязнения и массовостью токсикозов, выраженностью патологического процесса и воздействием на воспроизводство рыб, исходя из видовых особенностей. Рыбы, как завершающие звено трофических цепей в водоёме, аккумулируют в себе изменения в среде обитания на всех этапах своего развития, а поэтому должны быть обязательным объектом исследования в водоёмах, имеющих рыбохозяйственное значение. Исходя из токсикологической ситуации в южной части озера, все рыбохозяйственные мероприятия, без учёта токсикологического фактора, не дадут должного эффекта и бесперспективны. Мероприятия по снижению антропогенной нагрузки на акваторию южной части озера представляются сложными, дорогостоящими, длительными по времени и до конца невыполнимыми. Если в бассейне Ладожского озера не будут приняты своевременные конкретные практические меры по снижению уровня загрязнения, то сложившийся токсикологический режим ухудшится, так как начавшиеся положительные тенденции в промышленности и сельском хозяйстве будут существенно возрастать, при этом возрастет уровень поступления загрязняющих веществ в озеро, что отрицательно скажется на рыбах, а также и на санитарно-гигиеническом качестве воды. В настоящее время существенный эффект, особенно на акватории Волховской губы, может быть достигнут путем проведения кардинальных природоохранных мероприятий на промышленных предпри-

ятиях г.г. Великого Новгорода, Киришей (включая ГРЭС), Волхова, а также Сясьского ЦБК. Повышение рыбохозяйственного потенциала озера, особенно по ценным видам рыб, связано с мелиорацией нерестилищ и заводским воспроизводством полноценного в физиологическом отношении посадочного материала.

THE EFFECT OF POLLUTANTS ON THE ICHTHYOFAUNA OF LAKE LADOGA AND PREVENTIVE MEASURES

Romanov A.Yu. * – specialist of the Laboratory of Fisheries Ecology; **Arshanitsa N.M.** – PhD. Biol. nauk, ved. nauk. sotr. laboratory of Fisheries Ecology; **Kolosovskaya E.V.** – lead specialist of the Laboratory of Fisheries Ecology; **Anikina V.V.** – senior specialist of the Laboratory of Fisheries Ecology; **Grebennikov V.A.** – specialist of the Laboratory of Fisheries Ecology.

St. Petersburg branch of the All-Russian Scientific Research Institute of Fisheries and Oceanography (GosNIORH named after L.S. Berg)

*negan94@yandex.ru

ABSTRACT

Lake Ladoga is the largest body of water in Europe with huge reserves of drinking water, and has a particularly important sanitary and hygienic significance for the Northwestern region of Russia. The lake has significant fishery importance – annual catches reached 6000 tons. per year. However, over the past few decades, the fishery status of the reservoir has changed significantly. Stocks and catches of the most valuable fish species have sharply decreased as a result of anthropogenic impact – pollution and eutrophication.

Chemical-analytical studies of samples of water, bottom sediments, atmospheric precipitation and fish for metals were carried out in the laboratory of fishery ecology of the St. Petersburg branch of the Federal State Budgetary Institution "VNIRO" ("GosNIORH" named after L.S. Berg) on an atomic absorption spectrophotometer AA - 7000 (Shimadzu) according to approved methods (PNDF., 2010; M02-2406., 2013 and M02-902-125, 2005), and in the research laboratory of food and natural objects "ANALECT" of the Institute of the Ministry of Health of the Russian Federation, using the method of atomic absorption spectrometry according to approved methods. Hydrochemical and hydrological parameters were determined using an automatic multiparameter probe Aqua TROLL 500.

The southern water area of the lake, which is the most valuable in terms of fisheries, turned out to be the most vulnerable to toxicological effects. Pollution of spawning grounds, toxicosis of fish, violation of natural reproduction in combination with the hydrological features of the reservoir have led to irreversible transformations in the structure of the ichthyofauna as a whole for the entire lake. Pronounced consequences for the ichthyofauna of the reservoir are associated with the sensitivity of fish to pollutants, their ability to accumulate pathological information over a long-life cycle. The hydrological features of the southern water area of Lake Ladoga, combined with the location of pollution sources and the routes of pollutants, make it difficult to carry out preventive measures in this most important fishery area.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Моисеенко, Т.И. Водная экотоксикология, теоретические и практические аспекты / Т.И. Моисеенко. – Москва. Наука. – 2009. – 399 с.

2.Румянцев В.А. Ладожское озеро: характеристика, экологическое состояние / В.А. Румянцев, Л.А. Кудерский // // Общество, среда, развитие. – 2010 - №4. — с.171-182.

3.Науменко, М.А. Морфометрия и особенности гидрологического режима / М.А. Науменко, С.Г. Каретников // Ладожское озеро: прошлое, настоящее, будущее. –СПб.: Наука, 2002. – С. 16–49.

4.Аршаница, Н.М. Материалы ихтиотоксикологических исследований в бассейне Ладожского озера / Н.М. Аршаница // Сб. научных трудов ГосНИОРХ. – 1988. – Вып. 285. – 138 С.

5.Драбкова В.Г. Современное состояние и экологические проблемы Ладожского

озера/ В.Г. Драбкова // Сб. научных трудов «Ладожскому озеру надежную защиту». –СПБ - 2009. – С. 50–62.
6.Аршаница Н.М. Видовая чувствительность рыб к некоторым типам загрязнения водоемов / Н.М. Аршаница, Б.К. Каримов// Материалы Всероссийской научн. Конф. «Экологические проблемы пресноводных рыбохозяйственных водоемов России. – СПБ. – 2011. - С. 35-40.
7.Федорова, Г.В. Действие антропогенных факторов на разные звенья экосистемы бассейна Ладожского озера / Г.В. Федорова, Аршаница Н.М. // Сб. научных трудов ГосНИОРХ. – 1988. – Вып. 285. – С. 3–11.
8.Огородникова, В.А.Распределение и численность ранней молоди массовых видов рыб в южной части Ладожского озера / В.А. Огородникова, О.Н. Суслопарова // Сб. научных трудов ГосНИОРХ. – 1995. – Вып. 314. – С. 231–247.
9. Гребцов, М.Р. Эколого-токсикологическое состояние Волховской губы Ладожского озера / М.Р. Гребцов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2014. – № 3. – С. 239-245.
10.Стекольников, А.А. Особенности сезонного эколого-токсикологического состояния реки Волхов / А.А. Стекольников // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2014. – № 3. – С. 236–241.
11.Гребцов, М.Р. Сезонные особенности эколого-токсикологического режима Волховской губы Ладожского озера/ М.Р. Гребцов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2013. – № 4. – С. 65–70.
12.Гребцов, М.Р. Содержание металлов в рыбах Волховской губы Ладожского озера и среде их обитания / М.Р. Гребцов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2013. – № 4. – С. 70–74
13.Гребцов, М.Р. Эколого-токсиколгическая ценка аэрогенного пути загрязнения поверхностных вод / М.Р. Гребцов, А.А. Стекольников // Международный вестник ветеринарии. – СПб. – 2013. – № 1. – С. 47–51.
14.Стекольников А.А. К вопросу сезонного состояния рыб реки Волхов. Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2013. -№4-с.62-65.
15.Государственный доклад о состоянии и охране окружающей среды Санкт-Петербурга и Ленинградской области в 2002 году – СПб. – 2003.
16.Алхименко, А.П. Ладоге нужен закон об охране труда / А.П. Алхименко, В.А. Румянцев // Ладожскому озеру – надежную защиту. – СПб.: Институт озероведения РАН, 2009. – С. 4–13.
17.Леонов, А.Г. Рыбные ресурсы Ладожского озера и их использование в начале XXI века / А.Г. Леонов, А.Я. Тесля // Исследование больших озер Северо-Запада европейской части России. – СПб. – 2009. – С. 121–136
18.Кудерский, Л.А. Экологические проблемы Ладоги: концепция федерального закона об охране природной среды Ладожского озера и его бассейна Избранные труды. Исследования по ихтиологии, рыбному хозяйству и смешенным дисциплинам/ Л.А. Кудерский // Сборник научных трудов ФГНУ «ГосНИОРХ». - 2013. - Вып.342. -– С. 526
19.Кудерский, Л.А. Состояние рыбных ресурсов Ладожского озера/ Л.А. Кудерский // Сборник Ладожское озеро – СПб. –2009. –С. 73-85.
20.Курашов, Е.А. Литоральная зона Ладожского озера / Е.А. Курашов. – СПб. : Нестор-История, 2011. – С. 415.
21. Романов, А.Ю. Эколого-ихтиотоксикологическое состояние южной акватории Ладожского озера / А.Ю. Романов, Н.М. Аршаница// Международный вестник ветеринарии. – СПб. – 2023. – № 2. – С. 171–178
22.Романов А.Ю. Патоморфологическое состояние рыб южной акватории Ладожского озера / А.Ю. Романов, Д.Д. Карпов, Н.М. Аршаница, О.В. Зеленников // Международный вестник ветеринарии. – СПб. – 2023. – № 3. – С.218–223
23.Романов А.Ю. Влияние загрязнения на воспроизводство рыб южной акватории Ладожского озера / А.Ю. Романов, Н.М.

Аршаница, // Международный вестник ветеринарии. – СПб. – 2023. – № 3. – С.156–163
24.Романов, А.Ю. Эколого-ихтиотоксикологическое состояние южной акватории Ладожского озера / А.Ю. Романов, Н.М. Аршаница, М.Р. Гребцов, А.А. Стекольников и др. // Международный вестник ветеринарии. – СПб. – 2023. – № 2. – С. 171–178.
25.Распопов И.М. Роль литоральной зоны в оценке состояния экосистемы Ладожского озера / И.М. Распопов, И.Н. Андроникова // Ладожское озеро: прошлое, настоящее, будущее. –СПб. : Наука, 2002. – С. 264–268.
26.Аршаница, Н.М. Патоморфологический анализ в полевых и экспериментальных условиях / Н.М. Аршаница, Л.А. Лесников // Методы ихтиотоксикологических исследований. – 1987. – С. 7–9.
27.Аршаница, Н.М. Влияние токсикологического фактора на состояние рыб в раннем онтогенезе в условиях рыбоводных заводов / Н.М. Аршаница, Д.А. Сиденков // Сб. научных трудов Всероссийской конференции. Ульяновск. – 2007. – С. 209–214.
28.Румянцев, В.А. Формирование качества воды Ладожского озера в современных условиях, как основа его рыбных ресурсов. Исследования по ихтиологии и смежным дисциплинам на внутренних водоемах в начале XXI века / В.А. Румянцев // Сб. научных трудов ГосНИОРХ. – 2007. – Вып. 337. СПБ. – Москва – С. 472 – 483.
29.Роскин Г.Н. Микроскопическая техника/ Г.Н.Роскин, Л.Б. Левинсон// М. – 1957 – 468с.
30.Поленов А.Л. Гипоталамическая нейросекреция / А.Л. Поленов // Л. – Наука – 1971 – 168 С.

REFERENCES

1. Moiseenko, T.I. Aquatic ecotoxicology, theoretical and practical aspects / T.I. Moiseenko. – Moscow. Science. - 2009. – 399 p.
2. Rumyantsev V.A. Ladoga Lake: characteristics, ecological state / V.A. Rumyantsev, L.A. Kudersky // // Society, environment, development. - 2010 - No.4. — pp.171-182.
3. Naumenko, M.A. Morphometry and features of the hydrological regime / M.A. Naumenko, S.G. Karetnikov // Ladoga Lake: past, present, future. –St. Petersburg: Nauka, 2002. – pp. 16-49.
4. Arshanitsa, N.M. Materials of ichthyotoxicological studies in the Ladoga Lake basin / N.M. Arshanitsa // Collection of scientific papers of GosNIORH. – 1988. – Issue 285. – 138 p
5. Drabkova V.G. The current state and environmental problems of Lake Ladoga/ V.G. Drabkova // Collection of scientific papers "Reliable protection of Lake Ladoga". –ST. PETERSBURG - 2009. – pp. 50-62.
6. Arshanitsa N.M. Species sensitivity of fish to certain types of pollution of reservoirs / N.M. Arshanitsa, B.K. Karimov// Materials of the All-Russian Scientific Conference Conf. "Ecological problems of freshwater fisheries reservoirs in Russia. – St. PETERSBURG. – 2011. - pp. 35-40.
7. Fedorova, G.V. The effect of anthropogenic factors on different parts of the ecosystem of the Lake Ladoga basin / G.V. Fedorova, Arshanitsa N.M. // Collection of scientific works of GosNIORH. – 1988. – Issue 285. – pp. 3-11.
8. Ogorodnikova, V.A. Distribution and abundance of early juveniles of mass fish species in the southern part of Lake Ladoga / V.A. Ogorodnikova, O.N. Susloparova // Collection of scientific papers of GosNIORH. - 1995. – Issue 314. – pp. 231-247.
9. Grebtsov, M.R. Ecological and toxicological state of the Volkhov bay of Lake Ladoga / M.R. Grebtsov // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. - 2014. – No. 3. – pp. 239-245.
10. Stekolnikov, A.A. Features of the seasonal ecological and toxicological state of the Volkhov River / A.A. Stekolnikov // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. - 2014. – No. 3. – pp. 236-241.
11. Grebtsov, M.R. Seasonal features of the ecological and toxicological regime of the Volkhov bay of Lake Ladoga / M.R. Grebtsov // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. - 2013. – No. 4. – pp. 65-70.

12. Grebtsov, M.R. Metal content in fish of the Volkhov bay of Lake Ladoga and their habitat / M.R. Grebtsov // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. – 2013. – No. 4. – pp. 70-74
13. Grebtsov, M.R. Ecological and toxicological assessment of the aerogenic pathway of surface water pollution / M.R. Grebtsov, A.A. Stekolnikov // International Bulletin of Veterinary Medicine. – St. Petersburg, 2013. – No. 1. – pp. 47-51.
14. Stekolnikov A.A. On the issue of the seasonal state of the fish of the Volkhov River. Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. - 2013. -No.4-pp.62-65.
15. State report on the state and protection of the environment of St. Petersburg and the Leningrad region in 2002 – St. Petersburg – 2003.
16. Alkhimenko, A.P. Ladoga needs a law on labor protection / A.P. Alkhimenko, V.A. Rumyantsev // Ladoga Lake – reliable protection. – St. Petersburg: Institute of Lake Science of the Russian Academy of Sciences, 2009. – pp. 4-13.
17. Leonov, A.G. Fish resources of Lake Ladoga and their use at the beginning of the XXI century / A.G. Leonov, A.Ya. Tesl // The study of large lakes in the North-West of the European part of Russia. – St. Petersburg, 2009. – pp. 121-136
18. Kudersky, L.A. Environmental problems of Ladoga: the concept of the federal law on the protection of the natural environment of Lake Ladoga and its basin Selected works. Research on ichthyology, fisheries and mixed disciplines/ L.A. Kudersky // Collection of scientific papers of the Federal State Scientific Research University "GosNIORH". - 2013. -Issue 342. -- p. 526
19. Kudersky, L.A. The state of fish resources of Lake Ladoga/ L.A. Kudersky // Collection Ladoga Lake – St. Petersburg. - 2009. –pp. 73-85.
20. Kurashov, E.A. Littoral zone of Lake Ladoga / E.A. Kurashov. – St. Petersburg: Nestor-Istoriya, 2011. – p. 415.
21. Romanov, A.Yu. Ecological and ichthyotoxicological state of the southern water area of Lake Ladoga / A.Yu. Romanov, N.M. Arshanitsa// International Bulletin of Veterinary Medicine. – St. Petersburg. – 2023. – No. 2. – pp. 171-178
22. Romanov A.Yu. Pathomorphological state of fish in the southern waters of Lake Ladoga / A.Yu. Romanov, D.D. Karpov, N.M. Arshanitsa, O.V. Zelennikov // International Bulletin of Veterinary Medicine. – St. Petersburg. – 2023. – No. 3. – pp.218-223
23. Romanov A.Yu. The influence of pollution on fish reproduction in the southern waters of Lake Ladoga / A.Yu. Romanov, N.M. Arshanitsa, // International Bulletin of Veterinary Medicine. – St. Petersburg. – 2023. – No. 3. – Pp.156–163
24. Romanov, A.Yu. Ecological and ichthyotoxicological state of the southern water area of Lake Ladoga // International Bulletin of Veterinary Medicine. – St. Petersburg. – 2023. – No. 2. – pp. 171-178.
25. Raspopov I.M. The role of the littoral zone in assessing the state of the ecosystem of Lake Ladoga / I.M. Raspopov, I.N. Andronikova // Lake Ladoga: past, present, future. –St. Petersburg: Nauka, 2002. – pp. 264-268.
26. Arshanitsa, N.M. Pathomorphological analysis in field and experimental conditions / N.M. Arshanitsa, L.A. Lesnikov // Methods of ichthyotoxicological research. - 1987. – pp. 7-9.
27. Arshanitsa, N.M. The influence of a toxicological factor on the condition of fish in early ontogenesis in fish hatcheries / N.M. Arshanitsa, D.A. Sidenkov // Collection of scientific papers of the All-Russian Conference. Ulyanovsk. - 2007. –pp. 209-214.
28. Rumyantsev, V.A. Formation of the water quality of Lake Ladoga in modern conditions as the basis of its fish resources. Research on ichthyology and related disciplines in inland waters at the beginning of the XXI century / V.A. Rumyantsev // Collection of scientific papers of GosNIORH. - 2007. – Issue 337. St. Petersburg. – Moscow – pp. 472-483.
29. Roskin G.N. Microscopic technique/ G.N.Roskin, L.B. Levinson// M. – 1957 – 468s.
30. Polenov A.L. Hypothalamic neurosecretion / A.L. Polenov // L. – Nauka – 1971 – 168 P.

УДК: 579.62: 636.09: 543.52: 582.28: 615.282.84
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.202

ДРОЖЖЕВЫЕ ГРИБЫ В ЭТИОЛОГИИ МИКОЗОВ ЖИВОТНЫХ

Маноян М.Г.* – канд. ветеринар. наук, зав. отделом микологии (ORCID 0000-0001-6347-413X); **Гуршева А.С.** – науч. сотр. отдела микологии; **Габузян Н.А.** – мл. науч. сотр. отдела микологии; **Панин А.Н. –** советник директора (ORCID 0000-0002-6001-6739).

ФГБУ «ВГНКИ»

*mycology@vgnki.ru

Ключевые слова: *грибы, дрожжи, дрожжевые, Candida, Candida albicans, Candida tropicalis, Geotrichum candidum, Malassezia pachydermatis, Trichosporon, сельскохозяйственные, домашние, животные, чувствительность, резистентность, флуконазол, вориконазол*

Key words: *fungi, yeast, yeast, Candida, Candida albicans, Candida tropicalis, Geotrichum candidum, Malassezia pachydermatis, Trichosporon, agricultural, domestic, animals, sensitivity, resistance, fluconazole, voriconazole*

Финансирование: *Материалы подготовлены в рамках регионального конкурса Российского научного фонда 2021 года «Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований отдельными научными группами» (соглашение № 22-26-00206 от 29.12.2021*), https://rscf.ru/project/22-26-00206/

Поступила: 15.02.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Исследовано 760 образцов биологического материала из различных регионов РФ, выделено 320 изолятов дрожжевых грибов, что составило 42,10% от общего числа образцов. Из 760 образцов 29,0% принадлежали крупному рогатому скоту, 11,8% — мелкому рогатому скоту, 13,0% — лошадям, 1,6% — верблюдам, 7,2% - кошкам и 17,5% – собакам, 1,8% -сырое молоко и 0,8% - объектов внешней среды (ОВС). Большая часть выделенных изолятов (240) дрожжевых грибов принадлежало грибам рода *Candida,* что составило 75%. Видовое разнообразие грибов рода *Candida* представлено 15 видами. Наибольшее количество изолятов относятся к видам *Candida albicans, Candida catenulata, Candida kefyr Candida krusei, Candida membranifaciens, Candida pararugosa и Candida tropicals.* Данные виды грибов рода *Candida* известны в качестве возбудителей грибковых инфекций человека и животных. Видовое разнообразие видов, не относящихся к роду *Candida*, ограничено 7 видами в составе 5 родов – Geotrichum*, Malassezia, Rhodotorula, Saccharomyces* и *Trichosporon.* Установлен факт развития устойчивости некоторых видов дрожжей к наиболее часто используемым противогрибковым препаратам (флуконазолу и вориконазолу). Выявлено, что 30% исследованных изолятов рода *Candida* являются устойчивыми к флуконазолу, 32% – дозозависимыми, 38% – чувствительными, к вориконазолу устойчивы

28%, 30% – дозозависимыми, 42% – чувствительными. Изоляты, не относящиеся к роду *Candida* проявили устойчивость к флуконазолу 19%, 38% - дозозависимы, 43% – чувствительны, к вориконазолу – 23% – устойчивые, 18% – дозозависимые и 59 % – чувствительны. Доля устойчивых к флуконазолу и вориконазолу изолятов дрожжевых грибов, выделенных от животных, достаточно велика, она составляет в некоторых случаях до 50% (*C. tropicalis*). Высокий уровень устойчивости выявлен у изолятов *Candida albicans*, *Candida catenulata*, *Candida rugosa* и *Candida pararugosa*, что может существенно осложнить терапию вызываемых ими инфекций и внести свой вклад во всемирную проблему антибиотикорезистентности.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В настоящее время описано примерно 150 тыс. видов грибов, потенциально их количество может достигать 1,5 миллионов. Большая часть грибов — это сапрофиты, обитающие в почве и микоризообразующие виды. Дрожжевые грибы обитают преимущественно в местах, богатых питательными веществами: в отличие от мицелиальных грибов, дрожжи не нуждаются в большой поверхностной площади, с этим связана характерная форма их существования – преимущественно одиночные почкующиеся клетки [1,2].

Потенциально патогенных – несколько сотен видов [3], причём специализированных паразитов человека и животных – всего несколько десятков [4,5,6].

С обитанием в жидких и полужидких средах связана и другая особенность дрожжевых грибов, которая заключается в богатом наборе ферментов, необходимых для усвоения сахаров. Тем не менее, некоторые виды не утратили способность образовывать структуры, функционально схожие с мицелием (т. н. псевдомицелий), отдельные виды способны образовывать истинный мицелий (*Candida albicans*).

Дрожжевые грибы в большом количестве обитают на слизистых оболочках и кожных покровах различных животных в качестве комменсалов и при некоторых условиях они способны приводить к развитию патологического процесса. Сам по себе этот факт известен уже в течение долгого времени, как и некоторые механизмы развития инфекции: прежде всего это нарастание количества таких микроорганизмов и ослабление защитных функций макроорганизма [7,8].

Дрожжеподобные грибы рода *Candida* давно известны, как причины дерматитов у собак (*C. parapsilosis, C. albicans*) и могут передаваться человеку [9]. Так же причиной обширных дерматитов могут быть дрожжеподобные грибы рода *Malassezia* [10].

Широкое распространение получили так же маститы КРС, обусловленные различными дрожжеподобными грибами. Например, доля дрожжевых и дрожжеподобных грибов в этиологии маститов КРС в Китае (Heilongjiang Province) составила 35,6%. Доля дрожжеподобных грибов рода *Candida (C. krusei* 37%, *C. tropicalis* 10,4%) составляет 79,4% и на втором месте дрожжевые грибы рода *Trichosporon* (5,9%). При этом заболеваемость маститами, обусловленными грибами, составляла до 53% [11].

При исследовании, проводимых в период с 1996 по 2000 год в районе Люблина (Польша), грибы рода *Candida* были выделены из молока коров с клинически выраженным маститов в 6,9% случаев [12]. Нарастание численности дрожжевых грибов в тех эпитопах, где они обитают в качестве комменсалов, может быть связано с различными причинами, и эти причины во многом зависят от особенностей этих грибов. К примеру, обитающие на кожных покровах дрожжевые грибы рода *Malassezia* при нормальных условиях не приводят к развитию инфекции. Однако при определённых условиях, повышение секреции кожного сала, содержащего питательные вещества, необходимые для роста этих грибов их численность способна резко увеличиваться, что уже приводит к развитию патологического процесса [13].

Процессы, приводящие к нарастанию

численности грибов рода Candida, несколько отличаются. Их развитие связывают с уменьшением численности других микроорганизмов, что может являться эффектом воздействия антибиотиков [14].

Спектр инфекций, вызываемых дрожжевыми грибами, чрезвычайно широк: кандидозы кожных покровов [15] и слизистых оболочек [16], инвазивные кандидозы кишечника [17], кандидемия (кандидозная септицемия). Немаловажно и то, что дрожжевые грибы рода *Candida* не являются видоспецифичными возбудителями, один и тот же возбудитель способен поражать многие виды домашних, сельскохозяйственных и диких животных, а также человека [18].

В Бразилии дрожжеподобные грибы обнаруживали в молоке коров с клинически подтверждённым маститом в 43,3% случаев, причём в молоке здоровых животных такие грибы были обнаружены в 23,4% случаев [19].

В результате исследования, проведённого в 2010 – 2014 гг. в 11 племенных сельскохозяйственных организациях Свердловской области, так же была установлена связь дрожжеподобных грибов рода *Candida,* обнаруживаемых в молоке, и маститов [20].

Носителем возбудителей кандидоза, таких, как *Candida albicans, Candida parapsilosis, Candida tropicals*, может быть домашняя птица [21].

Дрожжевые грибы обладают многочисленными факторами, обуславливающих их патогенность и степень вирулентности. Среди этих факторов, выделяют следующие: рост при высокой температуре (до 37°С и выше) [22], способность к адгезии, формирование мицелиальных структур, обуславливающих тигмотропизм, протеолитические и липолитические ферменты, включая фосфолипазы, способность к образованию биоплёнок, низкая антигенность и механизмы, снижающие интенсивность иммунного ответа [23].

Способность к росту при высокой температуре считается одним из признаков патогенных и условно-патогенных грибов. Под высокой температурой подразумевается температура тела человека и других теплокровных животных. Способность к росту при температуре +37°С является признаком, важным для дифференциации некоторых видов дрожжевых грибов [24,25]. Кроме того, есть данные, указывающие на усиление адгезии при повышенной температуре, что играет немаловажную роль в патогенезе кандидозов [26].

Дрожжевые грибы могут обладать и устойчивостью к противогрибковым препаратам. Причём речь не только в возбудителях внутрибольничных инфекций, но и о грибах, выделяемых из объектов внешней среды. В последнее время устойчивые к противогрибковым препаратам изоляты обнаруживают в молоке коров, как клинически здоровых, так и имеющих признаки маститов [24,27], в помёте диких птиц [28], на птицефабриках [29].

Ввиду отсутствия актуальных достоверных данных о видовом разнообразии дрожжевых грибов у сельскохозяйственных и домашних животных, целью исследования явилось изучение видового разнообразия дрожжевых грибов, выделенных из клинического материала, отобранных от сельскохозяйственных, домашних животных, из объектов внешней среды и определение их чувствительности к противогрибковым препаратам.

Для реализации поставленной цели был организован сбор клинического материала и изолятов возбудителей грибковых инфекций животных на территории Российской Федерации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS Объектом исследования служили образцы клинического материала, отобранного от домашних и сельскохозяйственных животных. В качестве материала служили струпья с кожного покрова, мазки с ушей, со слизистых оболочек, с кожи вымени с клиническими признаками заболевания или с подозрением на микоз. В некоторых случаях брали смывы с объектов внешней среды (ОВС) (стены, полы, оборудование для содержания животных, оборудование для доения и т. д.) и образцы сырого мо-

лока перед началом процесса первичного доения. Пробы отбирались в течение 2022 -2023 годов в ветеринарных лабораториях в различных регионах Российской Федерации.

Образцы поступали в лабораторию в стерильных полиэтиленовых zip-lock пакетах и в индивидуально упакованных ватных тампон-зондах.

Выделение изолятов осуществляли классическими методом посева на плотных питательных средах Сабуро с содержанием хлорамфеникола 40 мкг/мл и циклогексимида 0,05% (M664, Sabouraud dextrose agar, «HiMedia Laboratories Pvt., Ltd.», Индия), сусло-агаре (M129, «HiMedia Laboratories Pvt., Ltd.», Индия), среде Чапека-Докса (M075, «HiMedia Laboratories Pvt., Ltd.», Индия), картофельно -глюкозном агаре (M96, «HiMedia Laboratories Pvt., Ltd.», Индия.).

Идентификацию дрожжевых грибов осуществляли по совокупности физиологических, биохимических (ферментация и ассимиляция источников углерода и азота) и, в меньшей мере, морфологических (строение и форма дрожжевых клеток, тип деления) признаков [30].

Для идентификации дрожжевых грибов использовали API-тест-системы CandidaTest21 (LaChema, Чехия). Принцип идентификации заключается в изучении биохимических особенностей дрожжевых грибов: способности к ферментации и ассимиляции источников углерода. Тест-система представляет собой 24-луночный микропланшет, каждая лунка которого содержит определённый реактив (источник углерода) и кислотно-основной индикатор (в случае определения ферментации), лунки для определения ассимиляции индикатора не содержат.

Для идентификации дрожжевых грибов их пересевали на свежую питательную среду Сабуро, культивировали при температуре +28°С в течение 24 часов. Затем отбирали единичную колонию и суспензировали её в дистиллированной воде, доводя суспензию до мутности 0,5 McF (единиц МакФарланда), мутность контролировали на денситометре Densi-la -meter II (LaChema, Чехия). Полученную суспензию переносили в лунки тест-системы в объёме 200 МКл на лунку.

Микропланшеты культивировали при температуре +28°С в течение 24 часов, затем оценивали результаты в соответствии с инструкцией изготовителя тест-системы. Полученные результаты обрабатывали в предоставляемой изготовителем программе, получая результаты идентификации (родовую и видовую принадлежность культуры, а также относительную вероятность корректной идентификации).

В некоторых случаях идентификацию дрожжевых культур использовали метод времяпролётной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS, Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization – Time Of Fly Mass Spectrometry), аппаратно-программный комплекс MALDI Biotyper, Bruker.

Дополнительно изучали отношение выделенных культур к температуре, для этого все культуры выращивали при температуре +37°С. Способность изолятов расти при температуре +37°С, является одним из факторов патогенности, что дает возможность развития инфекции.

Определение чувствительности дрожжевых грибов, использовали изоляты, которые имели интенсивный рост при температуре культивирования +37°С., определяли в соответствии с процедурой EUCAST e.def. 7.3.1 к флуконазолу и вориконазолу. Использовали концентрации 1, 2 и 4 мг/л для флуконазола и 0,0625, 0,125 и 0,5 для вориконазола.

Чистые культуры дрожжевых грибов культивировали при 37°С в течение 24 часов, готовили суспензию клеток плотностью 0,5 McF в дистиллированной воде и использовали для проведения исследования.

Исследование проводили в 96-луночных планшетах с плоским дном, рабочий объём лунки составлял 200 мкл, таким образом в лунке смешивали 100 мкл питательной среды с соответствующей двукратной концентрацией АМ и 100 мкл суспензии дрожжевых клеток. Планшеты культивировали при 37°С в течение

24 часов, затем измеряли оптическую плотность (ОП) на длине волны 495 нм, сравнивая ОП с контролем. За минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) принимали такую концентрацию препарата, которая ограничивала рост исследуемой культуры не менее, чем на 90%.

Для контроля воспроизведения методики использовали эталонные штаммы с известной чувствительностью к флуконазолу и вориконазолу (*Candida albicans* ATCC64548, ATCC64550).

Интерпретацию результатов определения чувствительности осуществляли, используя критерии EUCAST (AFST criteria) для *Candida albicans.*

Критерии оценки чувствительности дрожжевых грибов.

Препарат	R (устойчивый)	DD (дозозависимый)	S (чувствительный)
1	2	3	4
Вориконазол	≥0,5	0,5-0,125	≤0,0625
Флуконазол	≥4	4-2	≤1

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Представленные результаты представляют лишь малую часть исследований, проведенных за короткий период времени (2022-2023 гг) .

Всего исследовано 760 образцов из различных регионов РФ и выделено 320 изолятов дрожжевых грибов, что составило 42,10% от общего числа образцов.

Из этих 760 образцов 29,0% принадлежали крупному рогатому скоту, 11,8% — мелкому рогатому скоту, 13,0% — лошадям, 1,6% — верблюдам, 7,2% - кошкам и 17,5% – собакам, 1,8% -сырое молоко и 0,8% - ОВС.

Большая часть выделенных изолятов (240) дрожжевых грибов принадлежало грибам рода Candida, что составило 75% от общего числа выделенных изолятов.

Видовое разнообразие изолятов дрожжей рода Candida, выделенных от разных видов животных представлены в таблицу 1 и наглядно на диаграмме 1.

Видовое разнообразие выделенных изолятов рода Candida представлено 15 видами. Наибольшее количество выделенных изолятов относятся к видам *Candida albicans, Candida catenulata, Candida kefyr Candida krusei, Candida membranifaciens, Candida pararugosa и Candida tropicals.* Следуют обратить внимание, что данные виды грибов рода *Candida* известны в качестве возбудителей грибковых инфекций человека и животных.

Видовое разнообразие видов, не относящихся к роду *Candida*, несколько меньше, оно ограничено 7 видами в составе 5 родов. Видовой состав представлен на диаграмме 2 и в таблице 2.

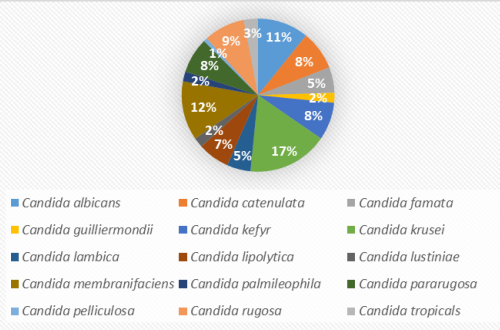


Диаграмма 1 – Видовое разнообразие выделенных изолятов рода Candida.

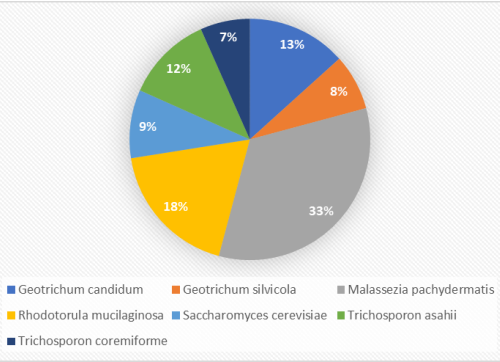


Диаграмма 2 – Видовое разнообразие выделенных изолятов, не относящихся к роду Candida.

Таблица 1 – Выделенные изоляты рода *Candida*

№ п/п	Вид изолята	N	%	Вид животного *
1	**2**	**3**	**4**	**5**
1	*Candida albicans*	26	10,8	Крупный рогатый скот, лошади, собаки, кошки, птица, ОВС, молоко
2	*Candida catenulata*	20	8,3	Лошади, верблюды, собаки, птица, молоко
3	*Candida famata*	13	5,4	Лошади, собаки, птица
4	*Candida guilliermondii*	5	2,1	Птица, лошади
5	*Candida kefyr*	19	8,0	Лошади, собаки, кошки
6	*Candida krusei*	41	17,0	Крупный рогатый скот, мелкий рогатый скот, лошади, собаки, кошки, птица, ОВС, молоко
7	*Candida lambica*	12	5,0	Крупный рогатый скот, лошади, собаки,
8	*Candida lipolytica*	16	6,7	Крупный рогатый скот, лошади, собаки.
9	*Candida lustiniae*	5	2,1	Лошади, собаки, кошки
10	*Candida membranifaciens*	30	12,5	Крупный рогатый скот, мелкий рогатый скот, лошади, собаки, верблюды, ОВС, молоко
11	*Candida palmileophila*	5	2,1	Лошади, собаки
12	*Candida pararugosa*	18	7,5	Крупный рогатый скот, мелкий рогатый скот, лошади, собаки, кошки, молоко
13	*Candida pelliculosa*	2	0,8	Лошадь кошка
14	*Candida rugosa*	21	8,7	Крупный рогатый скот, мелкий рогатый скот, лошади, собаки, верблюды, молоко
15	*Candida tropicalis*	7	3,0	Собаки, кошки.

**Примечание: животные распределены по частоте встречаемости изолята.*

Таблица 2 – Выделенные изоляты, не относящиеся к роду Candida

№ п/п	Вид	N	%	Вид животного *
1	**2**	**3**	**4**	**5**
1	*Geotrichum candidum*	16	8%	Крупный рогатый скот, верблюды, собаки
2	*Geotrichum silvicola*	5	7%	Собаки, лошади
3	*Malassezia pachydermatis*	23	32%	Собаки, кошки, лошади
4	*Rhodotorula mucilaginosa*	17	24%	Собаки, кошки, ОВС, молоко
5	*Saccharomyces cerevisiae*	5	7%	Птицы, крс
6	*Trichosporon asahii*	10	14%	Крупный рогатый скот, собаки, лошади, кошки
7	*Trichosporon coremiforme*	5	7%	Крупный и мелкий рогатый скот, лошади, собаки, ОВС, молоко

**Примечание: животные распределены по частоте встречаемости изолята.*

Как видно из таблицы грибы, не относящиеся к роду *Candida* в своей распространенности, не уступают грибам рода *Candida*. Наиболее большое количество изолятов пришло на долю видов *Malassezia pachydermatis, Rhodotorula mucilaginosa Geotrichum candidum* и представителей рода *Trichosporon.*

Чувствительность к противогрибковым препаратам.

В результате проведённых исследований установлено, что 30% исследованных изолятов рода *Candida* являются устойчивыми к флуконазолу, 32% - дозозависимыми, 38% - чувствительными. Соотношение наглядно отражено на диаграмме 3.

Изолят относили к той или иной группе в соответствии с минимальной концентрацией флуконазола, требуемой для подавления роста изолята (минимальная подавляющая концентрация, МПК). Так как для большинства видов такие критерии не определены, за основу были взяты МПК для *Candida albicans*. При МПК менее или равной 1,0 мг/л изолят считали чувствительным, при МПК в диапазоне от 2,0 до 4,0 мг/л изолят считали дозозависимым, при МПК более или равной 4,0 мг/л изолят считали устойчивым.

Исключение составляет *Candida krusei*, так как представители этого вида в норме устойчивы к флуконазолу, чувствительность к этому препарату для изолятов *Candida krusei* не определяли.

Чувствительность дрожжевых грибов рода *Candida* к вориконазолу отражены на диаграмме 4.

В результате проведённых исследований установлено, что 28% исследованных изолятов рода *Candida* являются устойчивыми к вориконазолу, 30% – дозозависимыми, 42% – чувствительными. Соотношение наглядно отражено на диаграмме 4. Изолят относили к той или иной группе в соответствии с минимальной концентрацией вориконазола, требуемой для подавления роста изолята (минимальная подавляющая концентрация, МПК). Так как для большинства видов такие критерии не определены, за основу были взяты МПК для *Candida albicans*. При МПК менее или равной 0,0625 мг/л изолят считали чувствительным, при МПК в диапазоне от 0,125 до 0,5 мг/л изолят считали дозозависимым, при МПК более или равной 0,5 мг/л изолят считали устойчивым.

Изоляты, не относящиеся к роду *Candida*.

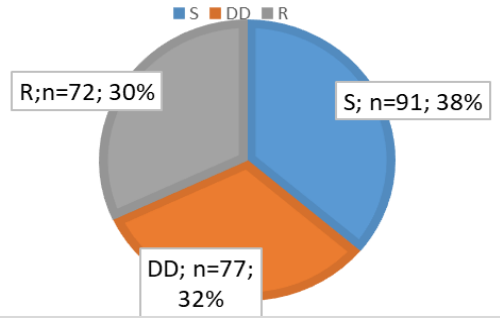


Диаграмма 3 – Доля видов грибов рода Candida чувствительных к флуконазолу.

Примечание: S – sensitive, чувствительный; DD – dose dependent, дозозависимый; R – resistance, устойчивый; n – общее количество изолятов

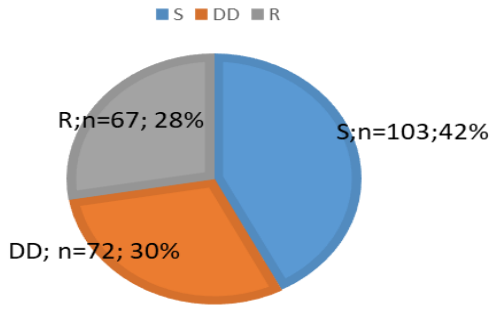


Диаграмма 4 – Доля видов грибов рода Candida чувствительных к вориконазолу.

Примечание: S – sensitive, чувствительный; DD – dose dependent, дозозависимый; R – resistance, устойчивый; n – общее количество изолятов.

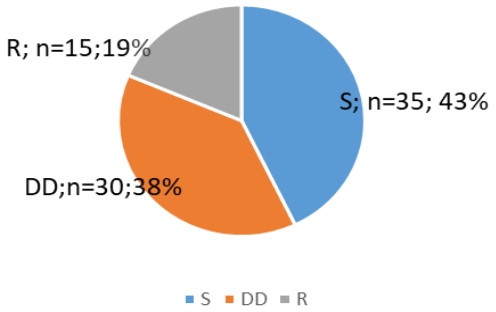


Диаграмма 5 – Виды грибов, не относящихся к роду Candida чувствительные к флуконазолу.

Примечание: S – sensitive, чувствительный; DD – dose dependent, дозозависимый; R – resistance, устойчивый; n – общее количество изолятов.

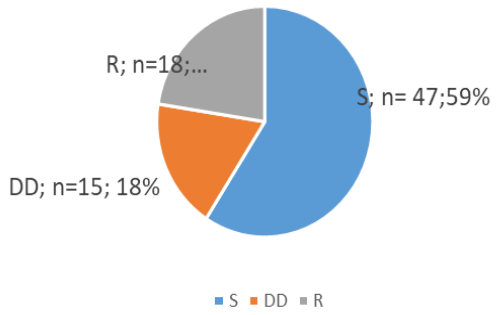


Диаграмма 6 – Виды грибов, не относящихся к роду Candida к вориконазолу .

Примечание: S – sensitive, чувствительный; DD – dose dependent, дозозависимый; R – resistance, устойчивый; n – общее количество изолятов.

В результате проведённых исследований установлено, что 19% исследованных изолятов, не относящихся к роду *Candida,* являются устойчивыми к флуконазолу, 38% - дозозависимыми, 43% - чувствительными. Соотношение наглядно отражено на диаграмме 5.

Изолят относили к той или иной группе в соответствии с минимальной концентрацией флуконазола, требуемой для подавления роста изолята (минимальная подавляющая концентрация, МПК). Так как для большинства видов такие критерии не определены, за основу были взяты МПК для *Candida albicans*. При МПК менее или равной 1,0 мг/л изолят считали чувствительным, при МПК в диапазоне от 2,0 до 4,0 мг/л изолят считали дозозависимым, при МПК более или равной 4,0 мг/л изолят считали устойчивым.

В результате проведённых исследований установлено, что 23% исследованных изолятов, не относящихся к роду *Candida,* являются устойчивыми к вориконазолу, 18% - дозозависимыми, 59% - чувствительными. Соотношение наглядно отражено на диаграмме 6.

Изолят относили к той или иной группе в соответствии с минимальной концентрацией флуконазола, требуемой для подавления роста изолята (минимальная подавляющая концентрация, МПК). Так как для большинства видов такие критерии не определены, за основу были взяты МПК для *Candida albicans*. При МПК менее или равной 0,0625 мг/л изолят считали чувствительным, при МПК в диапазоне от 0,125 до 0,5 мг/л изолят считали дозозависимым, при МПК более или равной 0,5 мг/л изолят считали устойчивым.

В целом, доля устойчивых к флуконазолу и вориконазолу изолятов дрожжевых грибов, выделенных от животных, достаточно велика, она составляет в некоторых случаях до 50% (*C. tropicalis*). Высокий уровень устойчивости выявлен у изолятов *Candida albicans*, *Candida catenulata*, *Candida rugosa* и *Candida pararugosa*.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, впервые проведенный мониторинг этиологической структуры грибковых болезней животных, проведенный за короткий период времени (2022-2023гг) в 27 регионах РФ, показал широкое распространение дрожжевых грибов рода *Candida* в самых различных экологических нишах. Выявлены изоляты дрожжевых грибов с кожных покровов животных, в сыром молоке крупного и мелкого рогатого скота, лошадей, верблюдов, со слизистых оболочек как сельскохозяй-

ственных, так и домашних животных, а также с поверхности оборудования, предназначенного как для доения, так и для ухода за животными. В своей распространенности не уступают и дрожжевые грибы вида *Malassezia pachydermatis, Rhodotorula mucilaginosa Geotrichum candidum* и представителей рода *Trichosporon.*

Установлен факт развития устойчивости некоторых видов дрожжей к наиболее часто используемым противогрибковым препаратам (флуконазолу и вориканозолу), что может существенно осложнить терапию вызываемых ими инфекций и внести свой вклад во всемирную проблему антибиотикорезистентности.

Очевидно, что в рамках двухлетней работы невозможно всесторонне оценить распространённость грибковых заболеваний животных, но послужило началом проведения систематического мониторинга для оценки уровня распространенности грибковых заболеваний животных, оценки чувствительности выделенных нами изолятов, для адекватной терапии, особо акцентируя свое внимание на социально-значимые виды, как основную стратегию профилактики и решения этой развивающейся проблемы в здравоохранения.

Наши результаты вселяют некоторые опасения, поскольку изученные изоляты были выделены от животных, в терапии которых азоловые антимикотики не применялись, или из объектов внешней среды, и выделенные изоляты уже имеют высокий уровень устойчивости, в том числе перекрёстной.

Мы продолжаем исследования грибов, в том числе дрожжевых, выделяемых от животных и мест их обитания, на предмет их потенциальной патогенности и вирулентности, устойчивости к противогрибковым препаратам и потенциала их дальнейшего распространения.

YEASTS IN THE ETIOLOGY OF ANIMAL MYCOSES

Manoyan M. G. – head of the mycology department (ORCID 0000-0001-6347-413X); **Gursheva A. S. –** researcher at the Department of mycology; **Gabuzyan N.A. –** researcher at the Department of mycology, **Panin A. N. -** Advisor to the Director

Federal State Budgetary Institution «VGNKI»

*mycology@vgnki.ru

Financing: *Materials prepared within the framework of the regional competition of the Russian Science Foundation 2021 "Conducting fundamental scientific research and exploratory scientific research by individual scientific groups" (agreement No. 22-26-00206 of December 29, 2021), https://rscf.ru/project/22-26-00206/.*

ABSTRACT

760 samples of biological material from various regions of the Russian Federation were studied, 320 isolates of yeast fungi were isolated, which amounted to 42.10% of the total number of samples. Of the 760 samples, 29.0% belonged to cattle, 11.8% to small cattle, 13.0% to horses, 1.6% to camels, 7.2% to cats and 17.5% to dogs, 1.8% to raw milk and 0.8% to environmental objects (OVS). Most of the isolated isolates (240) of yeast fungi belonged to fungi of the genus Candida, which amounted to 75%. The species diversity of fungi of the genus Candida is represented by 15 species. The largest number of isolates belong to the species Candida albicans, Candida catenulata, Candida kefyr Candida krusei, Candida membranifaciens, Candida pararugosa and Candida tropicals. These species of fungi of the genus Candida are known as pathogens of fungal infections in humans and animals. The species diversity of species not belonging to the genus Candida is limited to 7 species in 5 genera – Geotrichum, Malassezia, Rhodotorula, Saccharomyces and Trichosporon. The fact of the development of resistance of some yeast species to the most commonly used antifungal drugs (fluconazole and voriconazole) has been established. It was revealed that 30% of the studied isolates of the genus Candida are resistant to fluconazole, 32% are dose–dependent, 38% are sensitive, 28% are resistant to voriconazole, 30% are dose–

dependent, 42% are sensitive. Isolates not belonging to the genus Candida showed resistance to fluconazole 19%, 38% - dose–dependent, 43% - sensitive, voriconazole – 23% – resistant, 18% – dose–dependent and 59% - sensitive. The proportion of isolates of yeast fungi resistant to fluconazole and voriconazole isolated from animals is quite large, in some cases it is up to 50% (C. tropicalis). A high level of resistance was found in isolates of Candida albicans, Candida catenulata, Candida rugosa and Candida pararugosa, which can significantly complicate the treatment of infections caused by them and contribute to the worldwide problem of antibiotic resistance.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Дрожжи в природе: монография / И. Ю. Чернов. - Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2013. - 336 с. - ISBN 978-5-87317-927-5.

2.Бабьева, И.П. Биология дрожжей: учеб. пособие / И. П. Бабьева, И. Ю. Чернов; Моск. гос. ун-т им. М. В. Ломоносова, Фак. почвоведения, Ин-т экол. почвоведения. - Москва: Товарищество науч. изд. КМК, 2004 (Тип. ООО Галлея-Принт). - 221 с. - ISBN 5-87317-179-3 (в обл.).

3.Ainsworth, G. C. Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi. – Cabi, 2008. 655 p. DOI:10.1590/S0036-46651996000400018.

4.Hizlisoy, H. Clonal diversity and antifungal susceptibility of Candida spp. recovered from cow milk / H. Hizlisoy, N. E. Onmaz, F. Karadal [et al]//. – 2020. – Т. 70. – №. 1. – С. 40-49. DOI:10.15567/mljekarstvo.2020.0104.

5.Kidd, S. Descriptions of medical fungi. / S. Kidd, C. Halliday, H. Alexiou [el al]//– the Authors. - 2016. - № Ed. 3. – 278p. ISBN: 9780646951294

6.O'Brien, H.E. Parrent, J.L. Jackson, J.A. Moncalvo, J.M. Vilgalys, R. Fungal community analysis by large-scale sequencing of environmental samples // Applied and environmental microbiology, Sept. 2005, p. 5544 –5550 doi: 10.1128/AEM.71.9.5544-5550.2005.

7.Köhler, J.R. The spectrum of fungi that infects humans. / J.R. Köhler, A. Casadevall, J. Perfect //Cold Spring Harb Perspect Med. 2014. doi: 10.1101/cshperspect. a019273.

8.Seyedmousavi, S. et al. Fungal infections in animals: a patchwork of different situations. // Med Mycology. - 2018.- p.165-187. doi: 10.1093/mmy/myx10.

9.Mueller, R. S. Cutaneous candidiasis in a dog caused by Candida guilliermondii // Veterinary Record vol. 150. no 23. - June 8, 2002. – pp.728-731 doi: 10.1136/vr.150.23.728.

10.Овчинников, Р. С. Грибы рода Malassezia в заболеваниях животных / Р.С. Овчинников, М.Г. Маноян, А.Г. Гайнуллина, А.Н. Панин, П.П. // Журнал Vetpharma. – 2013. – №. – № 3(14). – С. 36-52. - ISSN: 2307-4426

11.Zhou, Y. Ren, Y. Fan, C. et al. Survey of mycotic mastitis in dairy cows from Heilongjiang Province, China // Tropical Animal Health and Production. – 2013. Nov;45 (8):1709-14. doi: 10.1007/s11250-013-0419-y.

12.Krukowski, H. Survey of yeast mastitis in dairy herds of small-type farms in the Lublin region, Poland. Mycopathologia. / H. Krukowski, M. Tietze, T. Majewski [el at] // 2001. doi: 10.1023/a:1011047829414.

13.Prohic, A. Sadikovic, T. J. et al Malassezia species in healthy skin and in dermatological conditions // Int. J. Dermatol. - 2016. - p.494-504. doi: 10.1111/ijd.13116.

14.Seelig, M.S. The role of antibiotics in the pathogenesis of Candidainfections // Am J Med.- 1966.- p.887-917. doi: 10.1016/0002-9343(66)90204-x.

15.Коробцова, И. П. Кандидоз кожи В 2016 г.: Что нового? / И. П. Коробцова, В. Ю. Сергеев // Успехи медицинской микологии. – 2016. – Т. 15. – С. 314-319 - ISSN: 2310-9467

16.Балдина, П. М. Кандидоз урогенитальной области / П. М. Балдина, Д. С. Сорокина // Успехи медицинской микологии. – 2019. – Т. 20. – С. 183-189 - ISSN: 2310-9467

17.Тарасова, А. Д. Кандидоз желудочно-кишечного тракта / А. Д. Тарасова, Д. В. Шаяхметова // Успехи медицинской микологии. – 2019. – Т. 20. – С. 302-306.

18.Jadhav, V. J. Human and domestic ani-

mal infections caused by Candida albicans / V.J. Jadhav, M. Pal//J. Mycopathol. Res. – 2013. – Т. 51. – С. 243-249.
19.de Casia dos Santos, R. Marin, J.M. Isolation of Candida spp. from mastitic bovine milk in Brazil. Mycopathologia. 2005. doi: 10.1007/s11046-004-2229-2.
20.Ряпосова М.В., Шкуратова И.А., Кадочников Д.М., Тарасенко М.Н. Микробный пейзаж при маститах и эндометритах у коров в племенных организациях Уральского региона / Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2015. – №. 3. – С. 53-55.
21.Mancianti, F. Nardoni, S. Ceccherelli, R. Occurrence of yeasts in psittacines droppings from captive birds in Italy // Mycopathologia. 2002; doi: 10.1023/a:1014576304894.
22.Корнейкова, М. В. Вирулентность потенциально патогенных микромицетов, выделенных из почв кольского полуострова / Успехи медицинской микологии. – 2016. – Т. 15. – С. 26-32.
23.Елинов, Н. П. Candida species и кандидемии. Состояние проблемы (Обзор) / Ж. Проблемы мед. микологии. – 2001. – Т. 3. – №. 2. – С. 3-5.
24.Manoyan, M. G. Sokolov, V. Gabuzyan, N. G. Virulence potential and resistance to antifungal drugs of candida genus yeast fungi// Norwegian Journal of Development of the International Science, no. 60-2, 2021, pp.43-49. doi:10.24412/3453-9875-2021-60-2-43-49.
25.Neppelenbroek, K. H. Seo, R. S. Silvia, S. et al. Identification of Candida species in the clinical laboratory: a review of conventional, commercial, and molecular techniques // Oral Diseases, №20, p.329-344. – 2014 – Doi: 10.1111/odi.12123. Epub 2013 May 16.
26.Bendel, C. M. Colonization and Epithelial Adhesion in the Pathogenesis of Neonatal Candidiasis. Seminars in Perinatology, 27 (5), 357-364. 2003. DOI: 10.1016/s0146-0005(03)00059-4
27.Hizlisoy, H. Clonal diversity and antifungal susceptibility of Candida spp. recovered from cow milk / H. Hizlisoy, N. E. Onmaz, F. Karadal [et al]//. – 2020. – Т. 70. – №. 1. – С. 40-49. DOI:10.15567/mljekarstvo.2020.0104
28.Brilhante, R. S. N. Yeasts from Scarlet ibises (Eudocimus ruber): A focus on monitoring the antifungal susceptibility of Candida famata and closely related species. / R. S. N. Brilhante, A. L. Silva, F.O.B. Monterio [et al]// Med Mycol. 2017. doi: 10.1093/mmy/myw144.
29.Cafarchia, C. Yeasts isolated from cloacal swabs, feces, and eggs of laying hens. / C. Cafarchia, R. Latta, P. Danesi [et al]// Med Mycol. 2019. doi: 10.1093/mmy/myy026.
30.de Hoog, G. S. Atlas of clinical fungi, 2019. – №. Ed. 4. 1126p.

REFERENCES

1. Yeast in nature: monograph / I. Yu. Chernov. - Moscow: Partnership of Scientific Publications KMK, 2013. - 336 p. - ISBN 978-5-87317-927-5. (In Russ.)
2. Babieva, I.P. Biology of yeast: textbook. manual / I. P. Babieva, I. Yu. Chernov; Moscow state University named after M. V. Lomonosov, Faculty. Soil Science, Institute of Ecology. soil science. - Moscow: Partnership scientific. ed. KMK, 2004 (Type. Galley-Print LLC). - 221 p. - ISBN 5-87317-179-3 (in the region). (In Russ.)
3. Ainsworth, G. C. Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi. – Cabi, 2008. 655 rub. DOI:10.1590/S0036-46651996000400018.
4.Hizlisoy, H. Clonal diversity and antifungal susceptibility of Candida spp. recovered from cow milk / H. Hizlisoy, N. E. Onmaz, F. Karadal [et al]//. – 2020. – Т. 70. – №. 1. – С. 40-49. DOI:10.15567/mljekarstvo.2020.0104.
5. Kidd, S. Descriptions of medical fungi. / S. Kidd, C. Halliday, H. Alexiou [el al]//– the Authors. - 2016. - № Ed. 3. – 278p. ISBN: 9780646951294
6. O'Brien, H.E. Parrent, J.L. Jackson, J.A. Moncalvo, J.M. Vilgalys, R. Fungal community analysis by large-scale sequencing of environmental samples // Applied and environmental microbiology, Sept. 2005, p. 5544 –5550 doi: 10.1128/AEM.71.9.5544-5550.2005.

7.Köhler, J.R. The spectrum of fungi that infects humans. / J.R. Köhler, A. Casadevall, J. Perfect //Cold Spring Harb Perspect Med. 2014. doi: 10.1101/cshperspect. a019273.
8.Seyedmousavi, S. et al. Fungal infections in animals: a patchwork of different situations. // Med Mycology. - 2018.- p.165-187. doi: 10.1093/mmy/myx10.
9.Mueller, R. S. Cutaneous candidiasis in a dog caused by Candida guilliermondii // Veterinary Record vol. 150. no 23. - June 8, 2002. – pp.728-731 doi: 10.1136/ vr.150.23.728.Baldina, P. M. Candidiasis of the urogenital area / P. M. Baldina, D. S. Sorokina // Advances in medical mycology. – 2019. – T. 20. – P. 183-189 - ISSN: 2310-9467/ (In Russ.)
10. Ovchinnikov, R.S. Fungi of the genus Malassezia in animal diseases / R.S. Ovchinnikov, M.G. Manoyan, A.G. Gainullina, A.N. Panin, P.P. // Vetpharma Magazine. – 2013. – No. – No. 3(14). – P. 36-52. - ISSN: 2307-4426. (In Russ.)
11. Zhou, Y. Ren, Y. Fan, C. et al. Survey of mycotic mastitis in dairy cows from Heilongjiang Province, China // Tropical Animal Health and Production. – 2013. Nov;45 (8):1709-14. doi: 10.1007/s11250-013-0419-y.
12. Krukowski, H. Survey of yeast mastitis in dairy herds of small-type farms in the Lublin region, Poland. Mycopathologia. / H. Krukowski, M. Tietze, T. Majewski [el at] // 2001. doi: 10.1023/a:1011047829414.
13. Prohic, A. Sadikovic, T. J. et al Malassezia species in healthy skin and in dermatological conditions // Int. J. Dermatol. - 2016. - p.494-504. doi: 10.1111/ijd.13116.
14. Seelig, M.S. The role of antibiotics in the pathogenesis of Candidainfections // Am J Med.- 1966.- p.887-917. doi: 10.1016/0002-9343(66)90204-x.4.
15. Korobtsova, I. P. Skin candidiasis in 2016: WHAT'S NEW? / I. P. Korobtsova, V. Yu. Sergeev // Advances in medical mycology. – 2016. – T. 15. – P. 314-319 - ISSN: 2310-9467. (In Russ.)
16. Baldina, P. M. Candidiasis of the urogenital area / P. M. Baldina, D. S. Sorokina // Advances in medical mycology. – 2019. – T. 20. – P. 183-189 - ISSN: 2310-9467/(In Russ.)
17. Tarasova, A. D. Candidiasis of the gastrointestinal tract / A. D. Tarasova, D. V. Shayakhmetova // Advances in medical mycology. – 2019. – T. 20. – P. 302-306. (In Russ.)
18. Jadhav, V. J. Human and domestic animal infections caused by Candida albicans / V. J. Jadhav, M. Pal//J. Mycopathol. Res. – 2013. – T. 51. – P. 243-249.
19. de Casia dos Santos, R. Marin, J.M. Isolation of Candida spp. from mastitic bovine milk in Brazil. Mycopathologia. 2005. doi: 10.1007/s11046-004-2229-2.
20. Ryaposova M.V., Shkuratova I.A., Kadochnikov D.M., Tarasenko M.N. Microbial landscape of mastitis and endometritis in cows in breeding organizations of the Ural region / Russian Journal of Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology. – 2015. – No. 3. – pp. 53-55. (In Russ.)
21. Mancianti, F. Nardoni, S. Ceccherelli, R. Occurrence of yeasts in psittacines droppings from captive birds in Italy. // Mycopathologia. 2002; doi: 10.1023/ a:1014576304894.
22. Korneikova, M.V. Virulence of potentially pathogenic micromycetes isolated from soils of the Kola Peninsula / Advances in medical mycology. – 2016. – T. 15. – P. 26-32. (In Russ.)
23. Elinov, N. P. Candida species and candidemia. State of the problem (Review) / J. Medical problems. mycology. – 2001. – T. 3. – No. 2. – pp. 3-5. (In Russ.)
24. Manoyan, M. G. Sokolov, V. Gabuzyan, N. G. Virulence potential and resistance to antifungal drugs of candida genus yeast fungi// Norwegian Journal of Development of the International Science, no. 60-2, 2021, pp.43-49. doi:10.24412/3453-9875-2021-60-2-43-49.
25. Neppelenbroek, K. H. Seo, R. S. Silvia, S. et al. Identification of Candida species in the clinical laboratory: a review of conventional, commercial, and molecular techniques. // Oral Diseases, №20, p.329-344. – 2014 – doi: 10.1111/odi.12123. Epub 2013 May 16.
26. Bendel, C. M. Colonization and Epithelial Adhesion in the Pathogenesis of Neonatal

Candidiasis. Seminars in Perinatology, 27 (5), 357-364. 2003. DOI: 10.1016/s0146-0005(03)00059-4
27. Hizlisoy, H. Clonal diversity and antifungal susceptibility of Candida spp. recovered from cow milk / H. Hizlisoy, N. E. Onmaz, F. Karadal [et al]//. – 2020. – Т. 70. – №. 1. – С. 40-49. DOI:10.15567/mljekarstvo.2020.0104
28. Brilhante, R. S. N. Yeasts from Scarlet ibises (Eudocimus ruber): A focus on monitoring the antifungal susceptibility of Candida famata and closely related species. / R. S. N. Brilhante, A. L. Silva, F.O.B. Monterio [et al]// Med Mycol. 2017. doi: 10.1093/mmy/myw144.
29. Cafarchia, C. Yeasts isolated from cloacal swabs, feces, and eggs of laying hens. / C. Cafarchia, R. Latta, P. Danesi [et al]// Med Mycol. 2019. doi: 10.1093/mmy/myy026.
30. S. de Hoog, G. S. Atlas of clinical fungi. , 2019. – №. Ed. 4. 1126p.

УДК: 639.3.043:597.442.014.46
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.215

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА «ЭКОФЛОР» НА ПРОТЕОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ КИШЕЧНИКА СТЕРЛЯДИ

Тарлева А.Ф.[1*] – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории экологии рыб (ORCID 0000-0002-3247-525X); **Микряков Д.В.**[1] – зав. лабораторией иммунологии, кандидат биологических наук (ORCID 0000-0001-9086-1688); **Жандалгарова А. Д.**[2] – канд. с/х наук, доц. кафедры аквакультура и водные биоресурсы (ORCID 0000-0002-8379-9748).

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

* ns_tarleva@ibiw.ru

Ключевые слова: *стерлядь, пробиотик «Экофлор», протеолитическая активность, слизистая оболочка кишечника, химус.*
Keywords: *sterlet, probiotic "Ecoflor", proteolytic activity, intestinal mucosa, chyme.*

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

Поступила: 08.12.2023 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ
Исследовано влияние пробиотического препарата «Экофлор» на протеолитическую активность слизистой оболочки кишечника и химуса стерляди. Этот пробиотик представляет собой консорциум штаммов лакто- и бифидобактерий: *B. bifidum, B. longum и L. acidophilus, L. casei, L. plantarum*, иммобилизованных на углерод-минеральном сорбенте СУМС-1. Для эксперимента рыб разделили на 4 группы: контрольную и три опытных. Опытным группам рыб давали корм с добавлением пробиотика в количестве 2, 4, 6 г/кг корма. Отбор проб проводили перед началом эксперимента, на 7, 14, и 21 сутки. Материал для исследования отбирали у 5 особей из каждой группы. Для получения ферментативно активных препаратов кишечник рыб на стекле ледяной бани освобождали от жира и сушили. После разреза химус собирали с помощью шпателя и скребка, затем снимали слизистую оболочку. Суммарную активность протеиназ вычисляли по отношению разности показаний спектрофотометра пробы с субстратом и холостой пробы к произведению массы кишечника (г) на время инкубации (мин) ЕА = ΔЕ425/(г×мин). Определения проводили в трех повторностях. Анализ данных показал стимулирующий эффект препарата на протеолитическую активность. Максимальное увеличение ферментативной активности в опытных группах по сравнению с контрольной зафиксировано на 7 сут эксперимента. Обнаружено более значительное увеличение протеолитической активности слизистой оболочки

кишечника, по сравнению с химусом. Вначале кормления установлено стимулирующее влияние препарата во всех опытных группах по сравнению с контролем. В дальнейшие сроки наблюдения эффективность действия пробиотика значительно снизилась.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Одна из основных задач индустриального выращивания – быстрое достижения объектами аквакультуры товарной массы. В таких условиях обитания с высокой плотностью посадки, перепадами температуры воды и концентрации кислорода, частыми процессами взвешивания и сортировки, рыбы испытывают стресс. Это приводит к увеличению содержания в воде органических веществ и условно-патогенных бактерий. В неспецифической защите организма рыб от неблагоприятных воздействий важную роль играет пищеварительная система [1]. Изменения состава микрофлоры воды и использование искусственных кормов вызывают нарушения в микробиоценозе кишечника рыб. Как следствие снижаются темпы роста и развития, а также устойчивость к возбудителям различных заболеваний.

В рыбоводстве для нормализации микробиоценоза кишечника и профилактики инфекционных болезней широко используют различные пробиотики [2; 3; 4]. Их добавление в корм оказывает положительное влияние на микрофлору желудочно-кишечного тракта и функционирование организма рыб. Также, использование пробиотиков связано со снижением эффективности антибиотиков [5; 6; 7; 8]. В рыбоводстве пробиотики применяют с 80 -х годов прошлого века [9]. В нашей стране разработаны несколько видов пробиотиков, но наибольшее количество на основе бактерий рода *Bacillus* [10; 11]. В последние десятилетия проведено много исследований влияния на эффективность различных пробиотических препаратов при выращивании объектов аквакультуры. У рыб изучают темпов роста и развития, скорости массонакопления, выживаемости, устойчивости к возбудителям инфекционных заболеваний и т.д. [4, 12; 13; 14]. Однако, недостаточно исследований воздействия различных по составу пробиотиков на процессы пищеварения у рыб. Исследована активность пищеварительных ферментов стерляди и карпа под воздействием пробиотических препаратов на основе *B. subtilis* [15; 16].

Препараты разных производителей отличаются по пробиотическим способностям восстанавливать расстройства микробиоты. Кроме симбионтных бактерий используют энтеросорбенты, обеспечивающие высокую биодоступность и доставку пробиотических бактерий в кишечник рыб. В связи с этим возрастает потребность изучения иммобилизованных форм пробиотических препаратов для дальнейшего использования в условиях индустриальной аквакультуры. В нашем исследовании использован пробиотический препарат «Экофлор», представляющий собой консорциум штаммов лакто- и бифидобактерий: *B. bifidum, B. longum u L. acidophilus, L. casei, L. plantarum*, иммобилизованных на углерод-минеральном сорбенте СУМС-1.

Цель работы – исследование влияния пробиотического препарата «Экофлор» на протеолитическую активность слизистой оболочки кишечника и химуса стерляди.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводили в середине мая – начале июне на экспериментальной базе «Сунога» Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН на годовиках стерляди (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758) средней массой 84,0±1,76 г. и длинной (*TL*) 23,4±0,44 см. После облова зимовалов рыб в течении 2 недель содержали в проточных бассейнах. Потом для эксперимента разделили на 4 группы: контрольную и три опытных.

Стерлядь кормили 6 раз в сутки кормом для рыб (SUPREME-15 3,0 мм) фирмы «Alltech Coppens». Согласно данным производителя в состав этого вида корма входят белки (46%), жиры (15%), клетчатка (1,4%), зола (5,1%), фосфор (0,85%) и витамин А (10000 МЕ/кг). В ходе эксперимента использовали одинаковые корма

одной серии. Контрольная группа (I) – простой корм, а опытные с добавлением пробиотического препарата «Экофлор»: II – 2, III – 4, IV – 6 г/кг корма путем нанесения на гранулы желатиновой суспензии препарата, с последующим подсушиванием. Отбор проб проводили перед началом эксперимента, на 7, 14 и 21 сут. Материал для исследования отбирали у 5 особей из каждой группы. У рыб вскрывали брюшную полость, изымали кишечник и полученные пробы замораживали при температуре -18…-22°С.

В лабораторных условиях пробы размораживали при комнатной температуре. Для получения ферментативно активных препаратов кишечник рыб на стекле ледяной бани освобождали от жира и сушили. После разреза химус собирали с помощью шпателя и скребка, затем снимали слизистую оболочку. Полученные навески химуса и слизистой оболочки кишечника гомогенизировали с раствором Рингера pH 7,5 (103 мМNaCl, 1,9 мМKCl, 0,45 мМ $CaCl_2$, 1,4 мМ $MgSO_4$) при температуре 0-4°С, для холоднокровных, в разведении 1:50. Суммарную активность протеиназ (активность трипсина КФ 3.4.21.4, химотрипсина КФ 3.4.21.1 и дипептидаз КФ 3.4.13.18) определяли в 0.3% -ного растворе азо-казеина в трис-буфере, pH 7,5 [17] инкубируя 60 мин при 20°С. Реакцию останавливали добавлением 0,3 М раствора трихлоруксусной кислоты. Осадок удаляли с помощью центрифугирования. Активность ферментов определяли спектрофотометрически. Активности ферментов вычисляли по отношению разности показаний спектрофотометра пробы с субстратом и холостой пробы к произведению массы кишечника (г) на время инкубации (мин) ЕА = ΔЕ425/(г×мин). Определения проводили в трех повторностях.

Статистическую обработку данных проводили при помощи стандартного пакета прикладных программ Statistica 10, MS Excel 2010. При сравнении результатов использовали однофакторный дисперсионный анализ ANOVA. Различия считали значимыми при $p \leq 0,01$ и 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Полученные результаты показали, что протеолитическая активность слизистой оболочки кишечника и химуса стерляди изменялась в течении всего эксперимента (таблица). Во все сроки наблюдения исследуемый показатель во всех опытных группах был выше, чем у рыб перед началом опыта, за исключением данных протеолитической активности слизистой на 14 сут эксперимента у особей II и 21 сут III группы.

Через 7 сут наблюдения активность протеиназ слизистой и химуса опытных рыб превышала показатели контрольных особей. В этот срок зафиксировано максимальное увеличение активности на 26-68% исследуемых ферментов слизистой и химуса на 35-38%. После двух недель эксперимента исследуемые показатели II и III группы были ниже контрольных значений, тогда как в IV – выше. Стоит отметить, что значимые отличия зафиксированы только в снижении активности протеиназ слизистой у стерляди III группы. На 21 сут после начало опыта зафиксировано значительное снижение активности протеиназ химуса во всех группах и слизистой в IV группе по сравнению с контролем. Однако у рыб II и III групп отмечено усиление активности пептидаз слизистой. Максимальное снижение исследуемого показателя слизистой (на 35,26%) установлено на 14 сут у особей III группы, а химуса (26,43%) в конце эксперимента во II группе.

Рыбам присуще все известные в настоящее время типы пищеварения. Одна из основных характеристик процессов пищеварения – протеолитическая активность пищеварительного тракта рыб. Процесс переваривания белковых компонентов пищи у рыб комплексный. Он включает в себя деполимеризацию ферментами энтеральной микробиоты и объектов питания. Большое значение в жизнедеятельности рыб играют протеолитические ферменты, разлагающие белки и другие беловые компоненты, доминирующие в пище рыб [18; 19; 20]. Расщепление белковых компонентов в желудочно-кишечном тракте

происходит с помощью различных ферментов. К протеолетическим ферментам кишечника рыб относят сериновые эндопептидазы панкреатического происхождения: трипсин и химотрипсин [21]. Также в кишечнике активно функционируют эластаза, аминопептидазы и карбоксипептидазы. Гидролиз белков завершают кишечные дипептидазы, функционирующие на мембранах и в цитозоле энтероцитов [18; 19; 20; 22].

Высокие исследуемые показатели опытных рыб, зафиксированные через 7 сут свидетельствуют об усилении активности пептидаз слизистой и химуса под влиянием пробиотического препарата «Экофлор». Пищеварительная активность увеличивалась по мере повышения дозировки препарата. Вероятно, более низкие дозировки препарата оказывают не достаточное влияние на пищеварение. На это указывают полученные данные в последующий срок наблюдения. Через 2 недели после начала эксперимента положительная динамика отмечена только у стерляди IV группы. На 21 сут произошло снижение активности пептидаз слизистой у особей IV группы и химуса всех опытных рыб. Однако стоит отметить более высокие показатели II и III опытных групп по сравнению с контролем. Возможно, по мере накопления в организме исследуемый препарат может оказывать как положительно, так и отрицательное влияние на механизм активации протеиназ слизистой оболочки кишечника рыб. Проверка данного предположения требует проведение более длительного исследования.

Таблица 1 – Активность пептидаз слизистой оболочки кишечника и химуса стерляди

Группы	Слизистая	Химус
Контроль перед опытом	9305,75	10020,02
I группа контроль (7сут)	7439,74±0,03 100 %	10301,93±0,02 100 %
II группа с добавкой 2 гр. (7 сутки)	9359,20±0,01* + 25,80%	13922,18±0,02** +35,15%
III группа с добавкой 4 гр. (7 сут)	11604,25±0,1 + 56,04%	14247,76±003** +38,30%
IV группа с добавкой 6 гр. (7 сут)	12464,36±0,003** + 67,54%	14223,46±0,02** +38,07%
I группа контроль (14 сут)	10267,91±0,03 100 %	13790,98±0,01 100 %
II группа с добавкой 2 гр. (14сут)	9918,04±0,03 -3,41 %	12619,86±0,03 -8,49 %
III группа с добавкой 4 гр. (14 сут)	6647,66±0,004** -35,26%	13718,09±0,02 -0,53%
IV группа с добавкой 6 гр. (14 сут)	11643,12±0,03 +17,39%	13941,62±0,03 +1,09 %
I группа контроль (21сут)	9417,52±0,01 100 %	13805,56±0,02 100 %
II группа с добавкой 2 гр. (21 сут)	10141,57±0,003** +7,69 %	10156,146±0,04** -26,43%
III группа с добавкой 4 гр. (21 сут)	11604,25±0,05 +23,22%	12240,83±0,023 -11,33%
IV группа с добавкой 6 гр. (21 сут)	6652,52±0,03** -29,36 %	11774,33±0,03* -14,71

*Примечание. Над чертой – уровень ферментативной активности, под чертой – изменение протеолитической активности, % от контроля, принятого за 100. * – значимые различия между опытом и контролем при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$.*

Обнаруженные различия в уровне ферментативной активности также могут быть связаны с тем, что рыбы начали активно питаться после зимовки. Известно, что во время продолжительного голодания снижается общая протеолитическая активность [23], а после возобновление питания значительно увеличивается [24]. На колебания активности ферментов, возможно, оказывает влияние изменения связанные со стрессирующими факторами (пересадка, отлов, хэндлинг и т.п.). Схожее по срокам с начала эксперимента изменение активности пептидаз слизистой оболочки и химуса у контрольной и опытной групп стерляди ранее отмечено в наших исследованиях [25 а, б].

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Анализ полученных результатов показал изменение протеолитической активность слизистой оболочки кишечника и химуса стерляди во время эксперимента. В начале кормления зафиксировано стимулирующее влияние препарата «Экофлор» во всех опытных группах по сравнению с контролем. В дальнейшие сроки наблюдения эффективность действия пробиотика значительно снизилась. Исходя из полученных данных и более ранних наблюдений применение пробиотиков, можем рекомендовать чередовать кратковременные периоды применения пробиотиков с их отсутствием в рационе стерляди, для стимулирования протеолитических ферментов кишечника стерляди.

EFFECT OF PROBIOTIC PREPARATION "ECOFLOR" ON PROTEOLYTIC ACTIVITY OF STERLET INTESTINE

Tarleva A. F. [1*] – Senior Researcher, Laboratory of Fish Ecology, candidate of Biology (ORCID 0000-0002-3247-525X); **Mikryakov D. V.**[1] – Head of Laboratory Immunology, candidate of Biology (ORCID 0000-0001-9086-1688); **Zhandalgarova A. D.**[2] – Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor of the Department of Aquaculture and Water Bioresources (ORCID 0000-0002-8379-9748).

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

[2] Astrakhan State Technical University

* ns_tarleva@ibiw.ru

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

ABSTRACT

The effect of the probiotic preparation "Ecoflor" on proteolytic activity of the intestinal mucosa and chyme of sterlet was studied. This probiotic is a consortium of strains of lacto- and bifidobacteria: B. bifidum, B. longum and L. acidophilus, L. casei, L. plantarum, immobilized on carbon-mineral sorbent SUMS-1. For the experiment, fish were divided into 4 groups: control and three experimental groups. Experimental groups of fish were given feed with probiotic in the amount of 2, 4, 6 g/kg of feed. Sampling was carried out before the beginning of the experiment, on 7, 14, and 21 days. Material for the study was taken from 5 individuals from each group. To obtain enzymatically active preparations, fish intestines were freed from fat and dried on ice bath glass. After incision, the chyme was collected with a spatula and scraper, then the mucous membrane was removed. The total proteinase activity was calculated by the ratio of the difference between the spectrophotometer readings of the sample with substrate and the blank sample to the product of the intestinal weight (g) by the incubation time (min) EA = ΔE425/(g×min). Determinations were performed in three repetitions. Data analysis showed the stimulating effect of the preparation on proteolytic activity. The maximum increase in enzymatic activity in the experimental groups compared to the control group was recorded on the 7th day of the experiment. A more significant increase in proteolytic activity of the intestinal mucosa compared to chyme was found. At the beginning of feed-

ing, the stimulating effect of the preparation was found in all experimental groups compared to the control. In further observation periods the effectiveness of the probiotic significantly decreased.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Кузьмина, В. В. Защитная функция пищеварительного тракта рыб / В. В. Кузьмина // Вопросы ихтиологии. – 1995. – Т. 35. – № 1. – С. 86-93. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21761186
2. Щербина, М. А. Кормление рыб в пресноводной аквакультуре / М. А. Щербина, Е. А. Гамыгин. – Москва: Издательство «ВНИРО», 2006. – 360 с.
3. Шульга, Е. А. Пробиотики в кормлении осетровых рыб при товарном выращивании. / Е. А. Шульга // Специальность 03.00.10 - ихтиология Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Астраханский государственный технический университет. – Астрахань, 2009. – С. 24.
4. Pavlov, D. S. The ProStor and Ferm KM-1 complex probiotic additives – innovation biotechnological preparations for enhancing the quality of domestic fish mixed feed / D. S. Pavlov, N. A. Ushakova, V. G. Pravdin et al. // Nova Sci. Publ. – 2014. – V. 20. – P. 239-244.
5. Noga, E. J. Fish disease: diagnosis and treatment / E. J. Noga // N.Y.: «Mosby-Year Book», 1995. – 321 p.
6. Пономарев, С. В. Технологии выращивания и кормления объектов аквакультуры юга России / С. В. Пономарев, Е. А. Гамыгин, С. И. Никоноров, Е. Н. Пономарева, Ю. Н. Грозеску, А. А. Бухарева. – Астрахань: Издательство «Нова плюс», 2002. – 264 с. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21761186
7. Юхименко, Л. Н. Применение антибактериальных препаратов и профилактика бактериальной геморрагической септецимии (аэромоноза) в рыбоводных хозяйствах / Л. Н. Юхименко, Г. С. Койдан, Л. И. Бычкова // Рыбное хозяйство. – Сер.: Болезни гидробионтов в аквакультуре. – 2000. – Вып. 2. С. 1-6. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/contents.asp?id=34841337
8. Малик, Н. И. Ветеринарные пробиотические препараты / Н. И. Малик, Н. А. Панин // Ветеринария. – 2001. – № 1. – С. 46-51. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/contents.asp?id=33825958
9. Мирзоева, Л. М. Применение пробиотиков в аквакультуре / Л. М. Мирзоева // Рыбное хозяйство. Сер.: Болезни гидробионтов в аквакультуре. – 2001. – Вып. 2. – С. 23-30. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/contents.asp?id=42912315
10. Бурлаченко, И. В. Перспективные пробиотики для осетровых рыб / И. В. Бурлаченко, Н. В. Судакова, Е. И. Балакириев, Д. А. Мордовцев, Е. В. Малик // Рыбное хозяйство. – 2006. – № 3. – С. 64-65. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=18092735
11. Грозеску, Ю. Н. Биологическая эффективность применения пробиотика субтилис в составе стартовых комбикормов для осетровых рыб / Ю. Н. Грозеску, А. А. Бахарева, Е. А. Шульга // Известия Самарского научного центра РАН. – 2009. – Т. 11. – № 1. – С. 42-45. – Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=13619347
12. Жандалгарова, А. Д. Пробиотики нового поколения как средство улучшения рыбоводно-биологических показателей молоди осетровых рыб / А. Д. Жандалгарова, А. А. Бахарева // Вестник ветеринарии. – 2015. – № 1 (72). – С. 59-61. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23022677
13. Скляров, В. Я. Перспективы применения препарата пробиотик “Субтилис” в рыбоводстве для обработки икры, эмбрионов и личинок рыб на примере карася *Carassius carassius* и карпа *Cyprinus carpio* (отряд карпообразные *Cypriniformes*, семейство карповые *Cyprinidae*) / В. Я. Скляров, В. Р. Микряков, Г. В. Кулаков, Е. Б. Кудряшова, М. Б. Вайнштейн // Вопросы рыболовства. – 2004. – Т. 5. – № 3 (19). – С. 514-521. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=42393683
14. Романова, Е. М. Адаптивная реакция тканей желудка африканского сома на микробиоту с пробиотическими свойства-

ми / Е. М. Романова, Е. В. Спирина, В. Н. Любомирова // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2021. – № 1 (53). – С. 117-123. – DOI: 10.18286/1816-4501-2021-1-117-123. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=45610396

Romanova, E. M. Adaptive reaction of stomach tissues of African catfish to microbiota with probiotic properties / E. M. Romanova, E. V. Spirina, V. N. Lyubomirova // Bulletin of the Ulyanovsk State Agricultural Academy.2021:1(53):117-123. – DOI: 10.18286/1816-4501-2021-1-117-123. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=45610396 (In Russ.)

15. Кузьмина, В. В. Влияние антибактериальных препаратов и пробиотиков на активность ферментов слизистой оболочки кишечника карпа Cyprinus carpio. 2. Протеиназы / В. В. Кузьмина, Д. В. Микряков, М. В. Шалыгин, К. В. Гаврилин // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2011. – № 4. – С. 18-22. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=17949141

16. Зуенко, В. А. Влияние кормового пробиотика на основе бактерий bacillus subtilis на пищеварение рыб при садковом выращивании / В. А. Зуенко, К. С. Лактионов, И. В. Правдин, Л. З. Кравцова, Н. А. Ушакова // Вопросы ихтиологии. – 2017. – Т. 57. – № 1. – С. 112-117. DOI: 10.7868/S0042875217010179. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=28172382

17. Alarcón, F. J. Digestive proteases during development of larvae of red palm weevil, *Rhynchophoruserrugineus* (Olivier, 1790) (Coleoptera: Curculionidae) / F. J. Alarcón, T. F. Martínez, P. Barranco, T. Cabello, M. Díaz, F. J. Moyano // Insect Biochemistry and Molecular Biology. – 2002. – V. 32. – P. 265-274.

18. Кузьмина, В. В. Физиолого-биохимические основы экзотрофии рыб / В. В. Кузьмина – Москва: «Наука», 2005. – 300 с. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=19491959

19. Кузьмина, В. В. Процессы экзотрофии у рыб. Организация. Регуляция. Адаптации / В. В. Кузьмина – Москва: «Полиграф-Плюс», 2015. – 260 с. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=29375264

20. Кузьмина, В. В. Процессы пищеварения у рыб. Новые факты и гипотезы / В. В. Кузьмина – Ярославль: «Филигрань», 2018. – 300 с. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=49566188

Kuzmina, V. V. Digestive processes in fish. New facts and hypotheses / V. V. Kuzmina – Yaroslavl: “Filigree”, 2018:300. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=49566188 (In Russ.)

21. Антонов, В. К. Химия протеолиза / В. К. Антонов – Москва: «Наука», 1983. – 367 с.

22. Уголев, А. М. Пищеварительные процессы и адаптации у рыб / А. М. Уголев, В. В. Кузьмина – СПб.: «Гидрометеоиздат», 1993. – 238 с.

23. Abolfathi, M. Compensatory growth in juvenile roach Rutilus caspicus: effect of starvation and re-feeding on growth and digestive surface area / M. Abolfathi, A. Hajimoradloo, R. Ghorbani, A. Zamani // J. Fish Biol. – 2012. – V. 81, – № 6. – P. 1880-1890.

24. Caruso, G. Changes in digestive enzyme activities of red porgy Pagrus pagrus during a fasting–refeeding experiment / G. Caruso, M. G. Denaro, R. Caruso, F. De Pasquale, L. Genovese, G. Maricchiolo // Fish Physiol Biochem. – 2014. – V. 40, – № 5. – P. 1373-1382.

25(а). Kuzmina, V. V. Effect of Dexamethasone on Activity of Glycosidases and Proreinases of Intestine of Sterlet *Acipenser ruthenus* / V. V. Kuzmina, E. M. Semenova, P. V. Rusanova, D. V. Mikryakov // Journal of Ichthyology. – 2011. – Vol. 51, – No. 8. P. 652-657.

25(б). Kuzmina, V. V. The influence of testosterone on activity of glycosidases and proteinases in the intestine of the sterlet (Acipenser ruthenus) / V. V. Kuzmina, E. M. Semenova, P. V. Rusanova, D. V. Mikryakov // Biology Bulletin. – 2011. – Vol. 38, – No. 5. – P. 487-492.

REFERENCES

1. Kuzmina, V. V. Protective function of the digestive tract of fish / V. V. Kuzmina // Questions of ichthyology.1995:35;1:86-93. – URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21761186 (In Russ.)
2. Shcherbina, M. A. Feeding fish in freshwater aquaculture / M. A. Shcherbina, E. A. Gamygin. – Moscow: Publishing House "VNIRO", 2006:360 (In Russ.)
3. Shulga, E. A. Probiotics in feeding sturgeon fish during commercial cultivation. / E. A. Shulga // Specialty 03.00.10 - ichthyology Abstract of the dissertation for the degree of candidate of biological sciences. Astrakhan State Technical University. – Astrakhan, 2009:24. (In Russ.)
4. Pavlov, D. S. The ProStor and Ferm KM-1 complex probiotic additives – innovation biotechnological preparations for enhancing the quality of domestic fish mixed feed / D. S. Pavlov, N. A. Ushakova, V. G. Pravdin et al. // Nova Sci. Publ.2014:20:239-244.
5. Noga, E. J. Fish disease: diagnosis and treatment / E. J. Noga // N.Y.: «Mosby-Year Book», 1995:321.
6. Ponomarev, S. V. Technologies for growing and feeding aquaculture objects in the south of Russia / S. V. Ponomarev, E. A. Gamygin, S. I. Nikonorov, E. N. Ponomareva, Yu. N. Grozescu, A. A. Bukhareva. - Astrakhan: Publishing House "Nova plus", 2002:264. – URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21761186 (In Russ.)
7. Yukhimenko, L. N. Use of antibacterial drugs and prevention of bacterial hemorrhagic septecymia (aeromonosis) in fish farms / L. N. Yukhimenko, G. S. Koidan, L. I. Bychkova // Fisheries. Ser.: Diseases of hydrobionts in aquaculture.2000:2:1-6. – URL: https://www.elibrary.ru/contents.asp?id=34841337 (In Russ.)
8. Malik, N. I. Veterinary probiotic preparations / N. I. Malik, N. A. Panin // Veterinary medicine.2001:1:46-51. – URL: https://www.elibrary.ru/contents.asp?id=33825958 (In Russ.)
9. Mirzoeva, L. M. Application of probiotics in aquaculture / L. M. Mirzoeva // Fisheries. Ser.: Diseases of hydrobionts in aquaculture.2001:2:23-30. – URL: https://www.elibrary.ru/contents.asp?id=42912315 (In Russ.)
10. Burlachenko, I. V. Promising probiotics for sturgeon fish / I. V. Burlachenko, N. V. Sudakova, E. I. Balakiriev, D. A. Mordovtsev, E. V. Malik // Fisheries.2006:3:64-65. – URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=18092735 (In Russ.)
11. Grozescu, Yu. N. Biological effectiveness of the use of the probiotic subtilis as part of starter feed for sturgeon fish / Yu. N. Grozescu, A. A. Bakhareva, E. A. Shulga // News of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences.2009:11;1:42-45. – URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=13619347 (In Russ.)
12. Zhandalgarova, A. D. New generation probiotics as a means of improving fish farming and biological indicators of juvenile sturgeon / A. D. Zhandalgarova, A. A. Bakhareva // Veterinary Bulletin.2015:1;72:59-61. – URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23022677 (In Russ.)
13. Sklyarov, V. Ya. Prospects for the use of the probiotic drug "Subtilis" in fish farming for the treatment of eggs, embryos and fish larvae using the example of crucian carp Carassius carassius and carp Cyprinus carpio (order Cypriniformes, family Cyprinidae) / V. Ya. Sklyarov, V. R. Mikryakov, G. V. Kulakov, E. B. Kudryashova, M. B. Vainshtein // Questions of fishing.2004:5;3 (19):514-521. – URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=42393683 (In Russ.)
14. Romanova, E. M. Adaptive reaction of stomach tissues of African catfish to microbiota with probiotic properties / E. M. Romanova, E. V. Spirina, V. N. Lyubomirova // Bulletin of the Ulyanovsk State Agricultural Academy.2021:1(53):117-123. – DOI: 10.18286/1816-4501-2021-1-117-123. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=45610396 (In Russ.)
15. Kuzmina, V. V. The influence of antibacterial drugs and probiotics on the activity of enzymes in the intestinal mucosa of the carp Cyprinus carpio. 2. Proteinases / V. V. Kuzmina, D. V. Mikryakov, M. V. Shalygin, K. V. Gavrilin // Problems of biology of pro-

ductive animals.2011:4:18-22. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=17949141 (In Russ.)
16. Zuenko, V. A. The influence of a feed probiotic based on the bacteria bacillus subtilis on the digestion of fish during cage rearing / V. A. Zuenko, K. S. Laktionov, I. V. Pravdin, L. Z. Kravtsova, N. A. Ushakova // Questions of ichthyology.2017;57:1:112-117. – DOI: 10.7868/S0042875217010179. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=28172382 (In Russ.)
17. Alarcón, F. J. Digestive proteases during development of larvae of red palm weevil, *Rhynchophoruserrugineus* (Olivier, 1790) (Coleoptera: Curculionidae) / F. J. Alarcón, T. F. Martínez, P. Barranco, T. Cabello, M. Díaz, F. J. Moyano // Insect Biochemistry and Molecular Biology.2002:32:265-274.
18. Kuzmina, V. V. Physiological and biochemical basis of fish exotrophy / V. V. Kuzmina - Moscow: “Science”, 2005:300. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=19491959 (In Russ.)
19. Kuzmina, V. V. Processes of exotrophy in fish. Organization. Regulation. Adaptations / V. V. Kuzmina – Moscow: “Poligraph-Plus”, 2015:260. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=29375264 (In Russ.)
20. Kuzmina, V. V. Digestive processes in fish. New facts and hypotheses / V. V. Kuzmina – Yaroslavl: “Filigree”, 2018:300. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=49566188 (In Russ.)
21. Antonov, V. K. Chemistry of proteolysis / V. K. Antonov - Moscow: Science, 1983:367. (In Russ.)
22. Ugolev, A. M. Digestive processes and adaptations in fish / A. M. Ugolev, V. V. Kuzmina – St. Petersburg: "Gidrometeoizdat", 1993:238. (In Russ.)
23. Abolfathi, M. Compensatory growth in juvenile roach Rutilus caspicus: effect of starvation and re-feeding on growth and digestive surface area / M. Abolfathi, A. Hajimoradloo, R. Ghorbani, A. Zamani // J. Fish Biol.2012:81;6:1880-1890.
24. Caruso, G. Changes in digestive enzyme activities of red porgy Pagrus pagrus during a fasting–refeeding experiment / G. Caruso, M. G. Denaro, R. Caruso, F. De Pasquale, L. Genovese, G. Maricchiolo // Fish Physiol Biochem.2014:40;5:1373-1382.
25(а). Kuzmina, V. V. Effect of Dexamethasone on the Activity of Glycosidases and Proreinases of Intestine of Sterlet *Acipenser ruthenus* / V. V. Kuzmina, E. M. Semenova, P. V. Rusanova, D. V. Mikryakov // Journal of Ichthyology.2011:51;8:652-657.
25(б). Kuzmina, V. V. The influence of testosterone on the activity of glycosidases and proteinases in the intestine of the sterlet (Acipenser ruthenus) / V. V. Kuzmina, E. M. Semenova, P. V. Rusanova, D. V. Mikryakov // Biology Bulletin.2011:38;5:487-492.

БИОХИМИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ

УДК: 616.718.56-089.11:619
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.224

АНАТОМО-ТОПОГРАФИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ДОСТУПОВ К ПРОКСИМАЛЬНОМУ ЭПИФИЗУ БОЛЬШЕБЕРЦОВОЙ КОСТИ

Рыбалкин, С.М.[1] – вет. врач, зав. отделения хирургии (ORCID 0009-0001-5824-0547); **Щипакин, М.В.**[2] **–** д-р ветеринар. наук, проф., зав. кафедрой анатомии животных (ORCID 0000-0002-2960-3222); **Мельников, С.И.**[2] – канд. ветеринар. наук, ассистент кафедры анатомии животных (ORCID 0000-0002-0963-8751).

[1]Сеть ветеринарных центров «Котонай»
[2]ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*m.shchipakin@yandex.ru

Ключевые слова: *топография, доступ, большая берцовая кость, собаки, эпифиз, TPLO, MIPO.*
Key words: *topography, access, tibia, dogs, epiphysis, TPLO, MIPO.*

Поступила: 01.12.2023 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Одним из самых часто выполняемых доступов в практике ветеринарного врача-ортопеда является доступ к проксимальному эпифизу большеберцовой кости. Доступ к проксимальному эпифизу большеберцовой кости необходим во многих случаях лечения патологий опорно-двигательного аппарата у кошек и собак и может быть применен при таких хирургических патологиях. Цель исследования – рассмотреть варианты хирургического доступа к проксимальному эпифизу большеберцовой кости для выполнения остеосинтеза переломов по типу Salter-Harris, и остеотомии, выравнивающей наклон плато большеберцовой кости (TPLO) с анатомо-топографическим обоснованием. Исследование было проведено в Сети ветеринарных центров «Котонай» и кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Объектом исследования послужили собаки мелких и средних пород в количестве двенадцати особей. Средний возраст пациентов составил от 6 месяцев до 12 лет. В исследовании участвовали 5 интактных самок и 7 интактных самцов. Средний вес на момент исследования составлял от 2,5 до 21,0 кг. В процессе сбора анамнеза жизни у всех пациентов исключено наличие хронических болезней, аллергий и инфекционных заболеваний. Первичное обследование животного включало в себя: сбор

анамнеза жизни и болезни, общий клинический осмотр, термометрия, нейроортопедический осмотр, аускультацию сердца и легких, рентгенологическое обследование под седацией. Общий клинический осмотр, термометрия и аускультация сердца и легких не выявили патологических изменений во всех случаях. По результатам исследования было установлено, что тяжелых постоперационных осложнений, требующих повторного лечения у исследуемых пациентов, не наблюдалось. При соблюдении четких анатомотопографических ориентиров при формировании доступов, хорошем понимании анатомии медиальной и краниальной поверхности большеберцовой кости – визуализация в ране при оперативных вмешательствах (остеосинтез переломов по типу Salter-Harris, остеотомии TPLO) в области проксимального эпифиза большеберцовой кости удобна и безопасна.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Одним из самых часто выполняемых доступов в практике ветеринарного врача -ортопеда является доступ к проксимальному эпифизу большеберцовой кости. Доступ к проксимальному эпифизу большеберцовой кости необходим во многих случаях лечения патологий опорно-двигательного аппарата у кошек и собак и может быть применен при таких хирургических патологиях, как: коррегирующие остеотомии при вальгусной, варусной, торсионной деформациях большеберцовой кости, остеотомия, выравнивающая наклон плато большеберцовой кости (TPLO), клиновидная остеотомия при лечении разрыва краниальной крестовидной связки, при лечении нестабильности надколенника различных степеней, для выполнения латерализации или медиализации шероховатости большеберцовой кости, переломы по зоне роста по типу Salter-Harris, а также при выполнении остеосинтеза при минимальном размере проксимального фрагмента и выполнении минимально инвазивного остеосинтеза на пластину (MIPO). В тех случаях, когда необходимо выполнить ревизию проксимального эпифиза большеберцовой кости с последующей остеотомией или репозицией и фиксацией фрагментов, в ветеринарной медицине чаще всего используется 2 доступа, имеющие свои отличительные особенности: медиальный и краниальный. Цель исследования – рассмотреть варианты хирургического доступа к проксимальному эпифизу большеберцовой кости для выполнения остеосинтеза переломов по типу Salter-Harris, и остеотомии, выравнивающей наклон плато большеберцовой кости (TPLO) с анатомотопографическим обоснованием [1-5].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование было проведено в Сети ветеринарных центров «Котонай» и кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Объектом исследования послужили собаки мелких и средних пород в количестве двенадцати особей. Средний возраст пациентов составил от 6 месяцев до 12 лет. В исследовании участвовали 5 интактных самок и 7 интактных самцов. Средний вес на момент исследования составлял от 2,5 до 21,0 кг. Основные жалобы при обращении: Хромота опорного типа 3 степени (2), хромота 4 степени (6), хромота 5 степени (4). Питание – промышленный сбалансированный рацион (7), который включал в себя корм для щенков средних пород (2), а для животных старше 1 года промышленный корм для взрослых собак мелких и средних пород (5). 5 пациентов находились на питании смешанного типа, которое включало в себя промышленный сбалансированный корм и продукты питания, такие как: вареная куриная грудка, вареное филе индейки, злаковые, бобовые. Вакцинальный статус – вакцинированы. Ранее перенесенных оперативных вмешательств не проводилось у 10 пациентов. У 3 пациентов была санация ротовой полости с удалением нежизнеспособных зубов. В процессе сбора анамнеза жизни у всех пациентов исключено наличие хронических болезней, аллергий и

инфекционных заболеваний. Первичное обследование животного включало в себя: сбор анамнеза жизни и болезни, общий клинический осмотр, термометрия, нейроортопедический осмотр, аускультацию сердца и легких, рентгенологическое обследование под седацией. Общий клинический осмотр, термометрия и аускультация сердца и легких не выявили патологических изменений во всех случаях. По данным нейроортопедического осмотра у двух пациентов была выявлена крепитация при флексии и экстензии в коленном суставе, а также патологическая подвижность проксимального эпифиза большеберцовой кости. У этих же пациентов был выявлен выраженный отек мягких тканей в области коленного сустава и очень выраженный болевой синдром. У 10 пациентов на нейроортопедическом осмотре было отмечено наличие положительного теста Хендерсона или компрессионного теста, был выявлен синдром «выдвижного ящика», и смещение голени при имитации шага краниально по отношению к бедренной кости, что указывает на наличие нестабильности в коленном суставе в следствие разрыва краниальной крестовидной связки. Других изменений при нейроортопедическом осмотре у данных пациентов не выявлено. После проведения осмотра пациентам было выполнено рентгенологическое обследование под седацией. В 10 случаях были произведены замеры для выполнения остеотомии, выравнивающей плато большеберцовой кости (TPLO), в 1 случае был выявлен перелом по типу Salter-Harris тип 1, и в одном случае был выявлен перелом по типу Salter-Harris тип 2 с авульсией шероховатости большеберцовой кости. Двум собакам был проведен остеосинтез перелома по зоне роста, и 10 пациентам была выполнена остеотомия, выравнивающая плато большеберцовой кости. Выполнение техники операции и уточнение оперативного доступа проводилась на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО СПбГУВМ на кадаверном материале [6-12].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате исследования было установлено, что для выполнения корректного остеосинтеза перелома по типу Salter-Harris 1 и 2 необходимо хорошо визуализировать всю линию перелома, а также восстановить анатомическую целостность проксимального эпифиза большеберцовой кости. Одной из важных особенностей при остеосинтезе переломов по зоне роста у молодых пациентов является безоговорочная анатомическая репозиция и жесткая фиксация. Для выполнения качественной репозиции и визуализации всей линии перелома нами был выбран краниальный доступ к проксимальному эпифизу большеберцовой кости. Не смотря на отек мягких тканей, обширную гематому и выраженное смещение фрагментов, анатомические ориентиры данной области для правильного выполнения доступа, легко обнаружить, выполняя интраоперационную пальпацию. Для выполнения краниального доступа к проксимальному эпифизу большеберцовой кости необходимо выполнить продольный разрез, начинающийся от середины коленной чашки и заканчивающийся в середине диафиза большеберцовой кости строго в проекции прямой связки надколенника, параллельно направлению волокон мышцы квадрицепса. Разрез должен быть не глубоким, чтобы не травмировать волокна прямой связки надколенника. После рассечения кожи – выполняется рассечение поверхностной фасции. На данном этапе можно безошибочно визуализировать краниальный край большеберцовой кости, представленный шероховатостью большеберцовой кости. Для визуализации всей линии перелома необходимо с медиальной стороны отделить медиальную точку закрепления портняжной, стройной и полусухожильной мышцы, а с медиальной стороны отделить краниальную большеберцовую мышцу. Данную диссекцию лучше выполнять строго по кости и деликатными распаторами. После визуализации всей линии перелома пациентам была выполнена репозиция проксимального и дистального фрагментов и временная

фиксация костодержателем по типу цапка. После того, как мы убедились в корректности репозиции – мы приступили к фиксации фрагментов. При остеосинтезе перелома по типу Salter-Harris тип 1 и 2 в проксимальном эпифизе большеберцовой кости, сочетанной с авульсионным переломом шероховатости большеберцовой кости, Ассоциацией Остеосинтеза (AO\ASIF) рекомендована фиксация с применением спиц Киршнера и серкляжной проволоки для обеспечения динамической стабильности фрагментов – в момент опоры фрагменты будут прижиматься друг к другу, что обеспечит раннее сращение и отсутствие обширной костной мозоли. Для корректного выполнения этой фиксации через латеральный и медиальный край зоны роста были проведены разнонаправленные спицы Киршнера диаметром 1.2 и 1.8мм в количестве 3х и 4х штук, не проходя через шероховатость большеберцовой кости, но проходящие через оба кортикальных слоя. Стоит отметить, что у растущих пациентов кортикальная кость в области метафизов мягкая и рыхлая, поэтому не стоит придавать большое физическое воздействие на силовой инструмент. После проведения спиц необходимо повторно оценить корректность положения репозированного фрагмента с краниальной, медиальной, латеральной сторон и снять временно фиксирующий их костодержатель. После следует выполнить обеспечение динамической стабильности шероховатости большеберцовой кости с помощью спиц Киршнера и серкляжной проволоки. Для правильного выполнения этой методики следует ввести через Шарпеевские волокна прямой связки надколенника 2 параллельно направленные спицы Киршнера, а дистальнее краниального края шероховатости большеберцовой кости на 1-2см выполнить формирование отверстия, проходящего с медиальной на латеральную стороны, диаметром 1.5мм. В данных случаях диаметр серкляжной проволоки составлял 0.8мм в обоих случаях. Для обеспечения динамической стабильности следует провести проволоку за спицы и провести ее через дистальное отверстие, после чего следует ее затянуть с помощью иглодержателя Гегара. После выполнения операции была произведена оценка движений в коленном суставе, которая не выявила отклонений. Крепитации при флексии и экстензии также не отмечается.

В случае выполнения остеотомии, выравнивающей наклон плато большеберцовой кости (TPLO), применяется медиальный доступ к проксимальному эпифизу большеберцовой кости. Разрез проводится на медиальной стороне, начиная от середины коленной чашечки до середины диафиза большеберцовой кости. Следует соблюдать осторожность при выполнении данного разреза для предотвращения повреждений медиальной вены Сафены, располагающейся на медиальной поверхности, преимущественно в области диафиза большеберцовой кости. После рассечения кожи выполняется рассечение поверхностной фасции и сразу под ней ближе к краниальному краю шероховатости большеберцовой кости на медиальной поверхности закрепляются портняжная, стройная и полусухожильная мышцы. Их следует пересечь, ведя скальпель четко по костной ткани для недопущения обширного кровотечения из мышц. После рассечения все мышцы следует отвести каудально. Для безопасного выполнения остеотомии следует отделить медиальную точку крепления подколенной мышцы, также строго двигаясь по поверхности каудального края медиальной поверхности проксимального эпифиза большеберцовой кости, не проникая вглубь тканей. В данный момент в ране четко будет визуализирована медиальная коллатеральная связка коленного сустава, краниальный край которой на уровне сустава должен являться центром радиальной остеотомии, выравнивающей плато большеберцовой кости. Для предотвращения обширного кровотечения из подколенной артерии, располагающейся в подколенной ямке на каудальном крае большеберцовой кости – следует перед выполнением остеотомии тампонировать каудальный аспект кости на уровне предполагаемого

распила смоченной в стерильном физиологическом растворе салфеткой. После выполнения остеотомии и фиксации фрагментов с помощью винтов и пластины выполняется ушивание мягких тканей. Для качественного закрытия крупных имплантов следует наложить швы, стягивающие портняжную мышцу, поверхностную фасцию и краниальную большеберцовую мышцу. Если подкожная жировая клетчатка выражена – следует выполнить и ее ушивание, после чего выполнить ушивание кожи.

В двух случаях пациентов, которым был выполнен остеосинтез с краниальным доступом стоит отметить, что визуализация при сформированном краниальном доступе к проксимальному эпифизу большеберцовой кости можно назвать хорошей. Учитывая отсутствие в доступе магистральных нервов и сосудов, данный доступ можно назвать простым в выполнении и предпочтительным при данных типах перелома, так как необходима хорошая визуализация для выполнения анатомической репозиции и надежной фиксации фрагментов. Стоит отметить, что прогноз и корректное функционирование сустава при таких типах перелома будут зависеть от правильности выполненной хирургии и анатомической репозиции. В ранних постоперационных осложнениях в обоих случаях стоит выделить выраженный отек мягких тканей, который разрешился в течение 5 дней после операции. Опора была восстановлена на 2 день с хромотой 3 степени опорного типа. Опора без хромоты наблюдалась через 2 недели после выполненного остеосинтеза. Через 10 дней было выполнено снятие швов с кожи. По рентгенографии, выполненной спустя 45 дней, была выявлена полная консолидация перелома. Отдаленных постоперационных и ранних постоперационных осложнений, требующих повторной хирургии, не наблюдалось.

В 10 случаях пациентов, которым была выполнена остеотомия, выравнивающая наклон плато большеберцовой кости, стоит отметить, что визуализация после формирования медиального доступа к проксимальному эпифизу большеберцовой кости, можно назвать хорошей. В доступе также отсутствуют магистральные нервы и сосуды, что характеризирует доступ, как безопасный. Ранние постоперационные осложнения наблюдались в 5 случаях и включали в себя отек мягких тканей. Отдаленных осложнений и осложнений, требующих повторного хирургического вмешательства, не наблюдалось. Консолидация линии остеотомии во всех случаях наблюдалась через 60 дней после операции.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

По результатам исследования было установлено, что тяжелых постоперационных осложнений, требующих повторного лечения у исследуемых пациентов, не наблюдалось. При соблюдении четких анатомо-топографических ориентиров при формировании доступов, хорошем понимании анатомии медиальной и краниальной поверхности большеберцовой кости – визуализация в ране при оперативных вмешательствах (остеосинтез переломов по типу Salter-Harris, остеотомии TPLO) в области проксимального эпифиза большеберцовой кости удобна и безопасна.

Рисунок 1 – Перелом Salter-Harris тип 2 у пациента в возрасте 6 месяцев, массой – 18 кг. Предоперационный снимок. Латеральное смещение проксимального фрагмента большеберцовой кости.

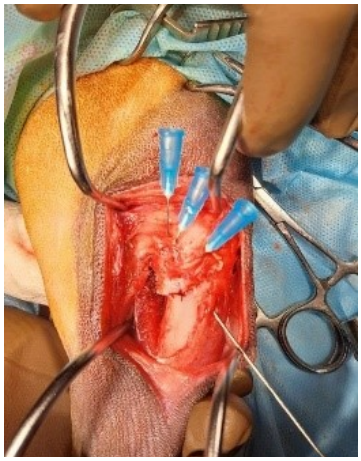


Рисунок 2 – Интраоперационное фото сформированного медиального доступа во время стабилизации коленного сустава методикой TPLO. Инъекционными иглами обозначена суставная поверхность для безопасного введения винтов.

Рисунок 3 – Постоперационная рентгенологическая оценка выполненной операции по стабилизации коленного сустава комбинированной методикой TPLO, Пациент, массой – 6,2 кг.

Рисунок 4 – Интраоперационное фото выполненной стабилизации коленного сустава методикой TPLO через медиальный доступ к проксимальному эпифизу большеберцовой кости. Пациент, массой – 10 кг.

ANATOMICAL AND TOPOGRAPHIC JUSTIFICATION OF VARIOUS ACCESSES TO THE PROXIMAL EPIPHYSIS OF THE TIBIA

Rybalkin, S.M.[1] – vet. the doctor, the head. Department of Surgery (ORCID 0009-0001-5824-0547); **Shchipakin, M.V.**[2] – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Head of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0000-0002-2960-3222); **Melnikov, S.I.**[2] – cand. Veterinarian, Assistant of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0000-0002-0963-8751).

[1]Network of veterinary centers "Kotonai"
[2]St. Petersburg State University of Veterinary Medicine
* m.shchipakin@yandex.ru

ABSTRACT

One of the most frequently performed accesses in the practice of an orthopedic veterinarian is access to the proximal epiphysis of the tibia. Access to the proximal epiphysis of the tibia is necessary in many cases of treatment of pathologies of the musculoskeletal system in cats and dogs and can

be used in such surgical pathologies. The aim of the study was to consider options for surgical access to the proximal epiphysis of the tibia to perform osteosynthesis of fractures according to the Salter–Harris type, and osteotomy leveling the slope of the tibial plateau (TPLO) with anatomical and topographic justification. The study was conducted in the Network of veterinary centers "Kotonai" and the Department of Animal Anatomy of the St. Petersburg State University of Veterinary Medicine. The object of the study was dogs of small and medium breeds in the number of twelve individuals. The average age of the patients ranged from 6 months to 12 years. The study involved 5 intact females and 7 intact males. The average weight at the time of the study ranged from 2.5 to 21.0 kg. In the process of collecting the life history of all patients, the presence of chronic diseases, allergies and infectious diseases is excluded. The initial examination of the animal included: collection of anamneses of life and illness, general clinical examination, thermometry, neuroorthopedic examination, auscultation of the heart and lungs, X-ray examination under sedation. General clinical examination, thermometry and auscultation of the heart and lungs did not reveal pathological changes in all cases. According to the results of the study, it was found that there were no severe postoperative complications requiring repeated treatment in the studied patients. With the observance of clear anatomical and topographic landmarks in the formation of accesses, a good understanding of the anatomy of the medial and cranial surfaces of the tibia, visualization in the wound during surgical interventions (osteosynthesis of Salter-Harris fractures, TPLO osteotomy) in the area of the proximal epiphysis of the tibia is convenient and safe.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Семенов, Б. С. Анализ лечения оскольчатых переломов трубчатых костей конечностей у кошек и собак / Б. С. Семенов, Т. Ш. Кузнецова, Е. А. Коняева // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии. – 2023. – № 2. – С. 67-72.

2.Классификация переломов костей конечностей / С. А. Ягников, А. В. Матвеев, Я. А. Кулешова [и др.] // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные. – 2008. – № 4. – С. 37-41.

3.Морфологические особенности строения скелета бедра и голени у собак породы Бассет-хаунд / М. В. Щипакин, А. В. Прусаков, Д. С. Былинская [и др.] // Материалы международной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ, Санкт-Петербург, 25–29 января 2016 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2016. – С. 87-88.

4.Уланова, Н. В. Сравнительный анализ методов TPLO и TTA в лечении разрыва передней крестообразной связки у собак на основании серии клинических случаев / Н. В. Уланова, С. С. Горшков // VetPharma. – 2014. – № 5(21). – С. 60-75.

5.Артериальное кровоснабжение области стопы кошки домашней / М. В. Щипакин, Н. В. Зеленевский, А. В. Прусаков [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2018. – № 1. – С. 135-137.

6.Морфологические особенности строения бедра и голени у собак пород бассет-хаунд и далматин в сравнительном аспекте / С. В. Вирунен, М. В. Щипакин, А. В. Прусаков [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2016. – № 1. – С. 175-178.

7.Артерии тазовой конечности йоркширского терьера / А. В. Прусаков, Н. В. Зеленевский, М. В. Щипакин [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2019. – № 2. – С. 145-151.

8.Гребенникова, Е. Р. Скелетотопия магистральных нервов кошки домашней / Е. Р. Гребенникова, М. В. Щипакин // Молодая аграрная наука: Материалы Международной научно-практической конференции (к 30-летию образования Майкопского государственного технологического университета, 1993-2023 гг.), Майкоп, 28 апреля 2023 года. –

Майкоп: ИП Магарин Олег Григорьевич, 2023. – С. 138-140.
9.Карпова, А. Е. Опыт оперативного лечения собак с разрывом передней крестовидной связки (ПКС) по методу TPLO (tibial plateau leveling osteotomy) / А. Е. Карпова, А. И. Карамалак // Тенденции развития ветеринарной хирургии : материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 95-летию кафедры общей, частной и оперативной хирургии УО ВГАВМ, Витебск, 03–04 ноября 2021 года. – Витебск: Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины ", 2021. – С. 61-63.
10.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. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2019. – С. 229-231.
11.Слесаренко, Н. А. Морфофункциональные особенности строения мышц коленного сустава в зависимости от механизма статолокомоторного акта / Н. А. Слесаренко, Е. О. Широкова, В. А. Иванцов // Иппология и ветеринария. – 2022. – № 1(43). – С. 160-167.
12.Слесаренко, Н. А. Структурный адаптогенез скелета конечностей животных при различной статолокомоции / Н. А. Слесаренко, Э. К. Гасангусейнова, Е. О. Широкова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2013. – № 5(43). – С. 94-97.

REFERENCES

1. Semenov, B. S. Analysis of treatment of comminuted fractures of tubular limb bones in cats and dogs / B. S. Semenov, T. S. Kuznetsova, E. A. Konyaeva // Regulatory and legal regulation in veterinary medicine. – 2023. – No. 2. – pp. 67-72.
2. Classification of limb bone fractures / S. A. Yagnikov, A.V. Matveev, Ya. A. Kuleshova [et al.] // Russian Veterinary Journal. Small domestic and wild animals. - 2008. – No. 4. – pp. 37-41.
3. Morphological features of the structure of the skeleton of the thigh and lower leg in Basset Hound dogs / M. V. Shchipakin, A.V. Prusakov, D. S. Bylinskaya [et al.] // Materials of the international scientific conference of the teaching staff, researchers and graduate students of St. Petersburg State University of Economics, St. Petersburg, January 25-29, 2016. – St. Petersburg: St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, 2016. – pp. 87-88.
4. Ulanova, N. V. Comparative analysis of TPLO and TTA methods in the treatment of anterior cruciate ligament rupture in dogs based on a series of clinical cases / N. V. Ulanova, S. S. Gorshkov // VetPharma. – 2014. – № 5(21). – Pp. 60-75.
5. Arterial blood supply to the cat's foot area home / M. V. Shchipakin, N. V. Zelenevsky, A.V. Prusakov [et al.] // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. - 2018. – No. 1. – pp. 135-137.
6. Morphological features of the structure of the thigh and lower leg in dogs of Bassethound and Dalmatian breeds in a comparative aspect / S. V. Virunen, M. V. Shchipakin, A.V. Prusakov [et al.] // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. - 2016. – No. 1. – pp. 175-178.
7. Arteries of the pelvic limb of the Yorkshire terrier / A.V. Prusakov, N. V. Zelenevsky, M. V. Shchipakin [et al.] // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2019. – No. 2. – pp. 145-151.
8. Grebennikova, E. R. Skeletotopia of the main nerves of a domestic cat / E. R. Grebennikova, M. V. Shchipakin // Young agrarian science: Materials of the International scientific and practical Conference (to the 30th anniversary of the formation of the Maikop State Technological University, 1993-2023), Maikop, April 28, 2023. – Maikop: IP Magarin Oleg Grigoryevich, 2023. –

pp. 138-140.
9. Karpova, A. E. Experience of surgical treatment of dogs with rupture of the anterior cruciate ligament (ACL) using the TPLO method (tibial plateau leveling osteotomy) / A. E. Karpova, A. I. Karamalak // Trends in the development of veterinary surgery: materials of the International scientific and practical conference dedicated to the 95th anniversary of the Department of General, private and operative Surgery UO VGAVM, Vitebsk, November 03-04, 2021. – Vitebsk: Educational institution "Vitebsk Order "Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine ", 2021. – pp. 61-63.
10. Poplavskaya, K. D. Roentgenoanatomy 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 agro-industrial complex of the country: materials 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, 2019. – pp. 229-231.
11. Slesarenko, N. A. Morphofunctional features of the structure of the knee joint muscles depending on the mechanism of the statolocomotor act / N. A. Slesarenko, E. O. Shirokova, V. A. Ivantsov // Hippology and veterinary medicine. – 2022. – № 1(43). – Pp. 160-167.
12. Slesarenko, N. A. Structural adaptogenesis of the skeleton of animal limbs in various statolocomeration / N. A. Slesarenko, E. K. Gasanguseynova, E. O. Shirokova // Proceedings of the Orenburg State Agrarian University. – 2013. – № 5(43). – Pp. 94-97.

УДК: 591.471.37:599.742.75
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.233

АНАТОМО-ТОПОГРАФИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЯГОДИЧНОЙ ГРУППЫ МЫШЦ ЭКСТЕНЗОРОВ И РОТАТОРОВ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА У КОШКИ ПОРОДЫ МЭЙН-КУН

Оганов Э.О. – канд. ветеринар. наук, доц. каф. анатомии и гистологии животных им. профессора А.Ф. Климова (ORCID 0000-0003-1206-4397); **Слесаренко Н.А.** * – д-р биол. наук, проф. каф. анатомии и гистологии животных им. профессора А. Ф. Климова (ORCID 0000-0002-8350-5965); **Широкова Е.О.** – канд. биол. наук, доц. каф. анатомии и гистологии животных им. профессора А. Ф. Климова, (ORCID 0000-0003-4891-5405).

ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА им. К.И. Скрябина

* slesarenko2009@yandex.ru

Ключевые слова: *кошка домашняя, мэйн-кун, скелетные мышцы, тазовая конечность, тазобедренный сустав.*
Keywords: *domestic cat, Maine coon, skeletal muscles, pelvic limb, hip joint.*

Поступила: 25.12.2023 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

В статье представлены анатомические особенности ягодичной группы разгибателей и супинаторов тазобедренного сустава у кошки породы мэйн-кун, отсутствующие в доступной литературе. Мэйн-кун является самой крупной из многочисленных пород домашних кошек. До настоящего времени анатомия кошек, а тем более возрастные, половые, породные, видовые особенности остаются мало изученными, при этом изучение видовых анатомических особенностей мышц тазовой конечности у животных является одной из актуальных задач в области сравнительной анатомии и практической ветеринарии. Нами установлено, что мышцы ягодичной группы разгибателей относятся к разным типам мышц: средняя ягодичная – динамическая, добавочная и глубокая ягодичные, грушевидная – динамостатические, с соответствующими функциональными способностями. Исследования выполнены на кафедре анатомии и гистологии животных им. профессора А.Ф. Климова ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина».Материалом для исследований служил секционный материал – тазовые конечности (n=8), отобранные от кошки домашней, без внешних признаков патологий опорно-двигательного аппарата. Использовали методы тонкого макро- и микроанатомического препарирования с последующим функциональным анализом изучаемых структур и скелетотопическим проецированием точек закрепления частей мышц. На основании проведенных исследований нами установлены скелето-топические особенности анатомических образований на тазо-

вой и бедренной кости. Убедительно показано, что у мэйн-куна основным экстензором тазобедренного сустава является средняя ягодичная мышца. Она самая мощная среди ягодичных мышц и по внутреннему строению относится к динамическому типу. При этом добавочная ягодичная мышца, являясь мышцей динамо-статического типа, выполняет более статическую функцию сустава, то есть при его разгибании удерживает сустав в этом положении более продолжительное время. Грушевидная и глубокая ягодичная мышцы, закрепляясь основаниями на разных уровнях являются синергистами в абдукции тазобедренного сустава.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Домашняя кошка является одной из наиболее распространённых видов животных, которая сопровождает человека в его длительном историческом пути. Мэйн-кун является самой крупной из многочисленных пород домашних кошек. До настоящего времени анатомия кошек, а тем более возрастные, половые, породные, видовые особенности остаются мало изученными, при этом изучение видовых анатомических особенностей мышц тазовой конечности у животных является одной из актуальных задач в области сравнительной анатомии и практической ветеринарии [1-7]. Анализ доступной литературы показал немногочисленные сведения, касающиеся особенностей строения соматических систем организма представителей семейства кошачьих. Вместе с тем эти данные являются базовыми в вопросах дифференциальной диагностике повреждений опорно-двигательного у этих животных [8-13].

Исходя из вышеизложенного, цель настоящего исследования– установить анатомо-топографические особенности мышц – ягодичной группы разгибателей и супинаторов тазобедренного сустава у мэйн-куна, определить точки их закрепления и оценить функциональную значимость изучаемых структур.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования выполнены на кафедре анатомии и гистологии животных им. профессора А.Ф. Климова ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина». Материалом для исследований служил секционный материал- тазовые конечности (n=8), отобранные от кошки домашней породы мэйн-кун, без внешних признаков патологий опорно-двигательного аппарата. Использовали методы тонкого макро- и микроанатомического препарирования под контролем бинокулярной лупы «Микромед HR 350 S», с последующим функциональным анализом изучаемых структур и скелетотопическим проецированием точек закрепления частей мышц [14-16].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Ягодичная группа разгибателей тазобедренного сустава у мэйн-куна представлена поверхностной, средней, добавочной и глубокой ягодичной мышцами. Кроме этого, у мэйн-куна в этой области находится грушевидная и проксимальный конец хвосто-бедренной мышц, а также супинаторы тазобедренного сустава – внутренняя и наружная запирательные, и двойничная мышцы.

Снаружи, ягодичная область покрыта поверхностной ягодичной фасцией (рис. 1 А), которая в краниальном направлении продолжается в поверхностную фасцию туловища, а в дистальном направлении – в поверхностную фасцию бедра. Под ней располагается глубокая ягодичная фасция (рис. 1 Б), которая покрывает все поверхностно расположенные мышцы в этой области – хвостобедренную, поверхностную ягодичную и среднюю ягодичную. Необходимо отметить, что в краниальной части ягодичной области она частично срастается с перимизием краниального конца средней ягодичной мышцы.

Поверхностная ягодичная мышца (m. glutaeus superficialis) у мэйн-куна уплощённой формы, более светлого окраса мышца, у которой каудальный край немного прикрыт мышечным брюшком хво-

стобедренной мышцы, а краниальным краем она сама покрывает дорсо-каудальный край средней ягодичной мышцы (рис. 2 А, Б, В-1), по структуре данная мышца относится к динамическому типу. Её мышечное брюшко имеет уплощённое, ближе к трапецевидной форму, при этом основанием она закрепляется на перимизии средней ягодичной мышцы, и далее на поперечно-рёберных отростках и надостистой связке на уровне 3-го крестцового и 1-го хвостового позвонков (рис. 2 В-1; рис. 3 А-1; рис. 4 А, Б-1). Вершиной она направлена вниз, к латеро-каудальному краю основания большого вертела, где расположена треугольной формы площадка с заострённым дистальным углом, для её краниальной части, а рядом, на каудо-латеральной поверхности, чуть ниже уровня малого вертела имеется узкая площадка для каудальной части мышцы, которая дистальным концом переходит в латеральную губу бедренной кости. Чётких границ деления на краниальную и каудальную части поверхностной ягодичной мышцы мы не обнаружили, однако, на дистальном конце мы видим разделение и закрепление в двух точках. Вместе с этим, каудальный край поверхностной ягодичной мышцы частично покрывает грушевидную мышцу. Снаружи она покрыта глубокой ягодичной фасцией, которая легко отделяется от неё (рис. 1 Б). Поверхностная ягодичная мышца покрывает снаружи дистальную и каудальную части средней ягодичной мышцы. Краниальный мышечный край истончается и продолжается перимизием над краниальной частью средней ягодичной мышцы, и далее, в передней части последней срастается с перимизием средней ягодичной мышцы и глубокой ягодичной фасцией. Эта фасциальная часть мышцы начинается от надостистой связки на уровне 1-2-го крестцовых позвонков, затем дугообразно, продолжается до маклока, кроме этого, между маклоком и крестцом он продолжается и в поясничную область (рис. 1 Б).

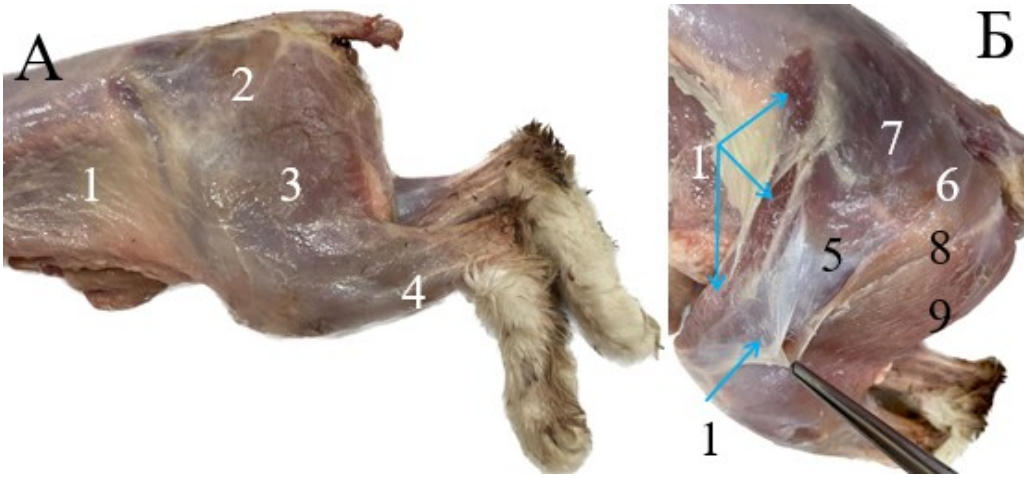


Рисунок 1 – Макропрепарат тазовой конечности мэйн-куна: А – расположение поверхностной фасции и Б – глубокой фасции на тазовой конечности: 1 – поверхностная фасция туловища; 2 – поверхностная ягодичная фасция; 3 – поверхностная фасция бедра; 4 – поверхностная фасция голени; 5 – напрягатель широкой фасции бедра; 6 – проекция поверхностной ягодичной мышцы, 7 – проекция средней ягодичной мышцы; 8 – проекция хвостобедренной мышцы на глубокую ягодичную фасцию; 9 – двуглавая мышца бедра; 10 – глубокая фасция бедра; 11 – портняжная мышца.

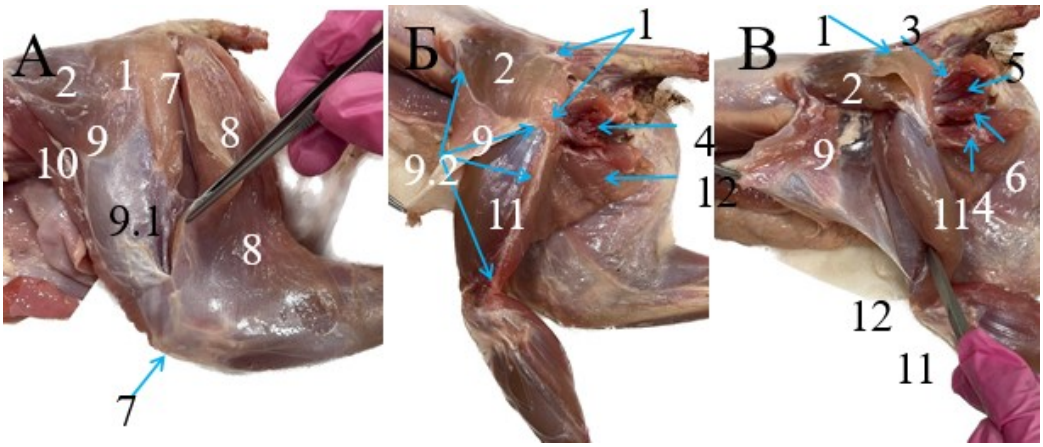


Рисунок 2 – Макропрепарат тазовой конечности у мэйн-куна: А – расположение мышц на латеральной поверхности тазовой конечности; Б – вид после удаления двуглавой и хвостобедренной мышц; В – вид после отсечения и отведения напрягателя широкой фасции бедра: 1 – поверхностная ягодичная мышца; 2 – средняя ягодичная мышца; 3 – наружная запирательная мышца; 4 – квадратная мышца бедра; 5 – двойничная мышца; 6 – внутренняя запирательная мышца; 7 – хвостобедренная мышца; 8 – двуглавая мышца бедра; 9 – мышечное брюшко напрягателя широкой фасции бедра, 9.1 – его фасциальная часть; 10 – портняжная мышца; 11 – латеральная головка четырёхглавой мышца бедра.

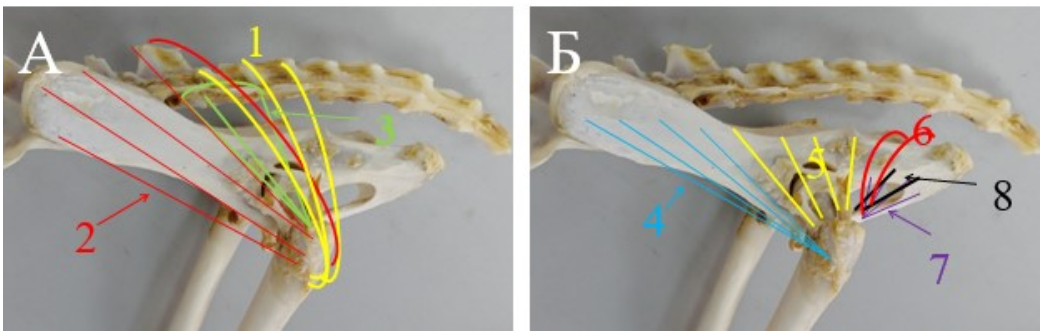


Рисунок 3 – Скелетотопические ориентиры ягодичной группы мышц у мэйн-куна: А – мышц второго и третьего пластов; Б – глубоких мышц четвёртого пласта: 1 – поверхностная ягодичная мышца; 2 – средняя ягодичная мышца; 3 – грушевидная мышца; 4 – добавочная ягодичная мышца; 5 – глубокая ягодичная мышца; 6 – внутренняя запирательная мышца; 7 – наружная запирательная мышца; 8 – двойничная мышца.

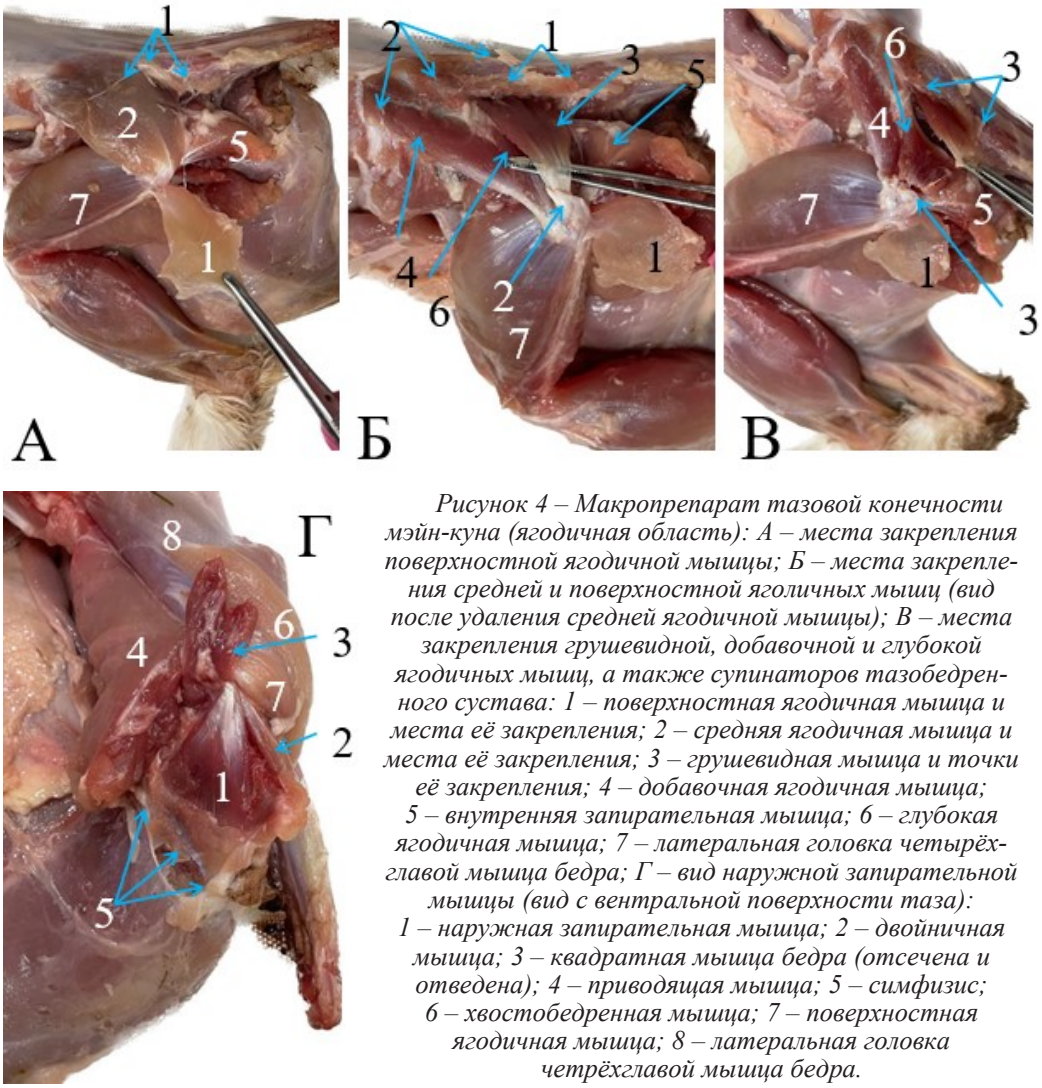


Рисунок 4 – Макропрепарат тазовой конечности мэйн-куна (ягодичная область): А – места закрепления поверхностной ягодичной мышцы; Б – места закрепления средней и поверхностной яголичных мышц (вид после удаления средней ягодичной мышцы); В – места закрепления грушевидной, добавочной и глубокой ягодичных мышц, а также супинаторов тазобедренного сустава: 1 – поверхностная ягодичная мышца и места её закрепления; 2 – средняя ягодичная мышца и места её закрепления; 3 – грушевидная мышца и точки её закрепления; 4 – добавочная ягодичная мышца; 5 – внутренняя запирательная мышца; 6 – глубокая ягодичная мышца; 7 – латеральная головка четырёхглавой мышца бедра; Г – вид наружной запирательной мышцы (вид с вентральной поверхности таза): 1 – наружная запирательная мышца; 2 – двойничная мышца; 3 – квадратная мышца бедра (отсечена и отведена); 4 – приводящая мышца; 5 – симфизис; 6 – хвостобедренная мышца; 7 – поверхностная ягодичная мышца; 8 – латеральная головка четрёхглавой мышца бедра.

Средняя ягодичная мышца (m. glutaeus medius) у мэйн-куна хорошо развита, среди ягодичной группы она самая крупная, мощная, имеет трапецевидную форму, с округлённым краниальным краем. По внутреннему строению относится к мышцам динамического типа, однако – перистая (рис. 1. Б-7; рис. 2 А, Б, В-2; рис. 3 А-2). Проксимальным концом, или краниальным краем средняя ягодичная мышца зарепляется по всей округлости краниального рая подвздошной кости и прилежащей к ней площадки, от маклока, до надостистой связки и остистых отростков первых двух крестцовых позвонков (рис. 4 А, Б-2). Кроме этого, в средней части, её мышечные волокна продолжаются в поясничную область, в длиннейшую мышцу спины.

Мышца расположена на наружной поверхности подвздошной кости, на протяжении от краниального края крыла подвздошной кости до большого вертела бедренной кости. Снаружи её покрывает сухожильная и мышечная части поверхностной ягодичной мышцы (рис. 1 Б-7;

рис. 2 А, Б, В-2; рис. 3 А-2), а сама она покрывает добавочную и частично грушевидную мышцы. также на дистальном конце мышцы можно увидеть, что она разделяется на два потока мышечных волокон, и что заканчивается двумя точками закрепления (рис. 4 А-2). На внутренней поверхности дистального конца основная масса мышечных волокон формирует сухожилие, которым средняя ягодичная мышца закрепляется на латеральной поверхности верхней части большого вертела, под дистальным сухожильным концом поверхностной ягодичной мышцы. Каудальный поток мышечных волокон имеет округлённый каудальный контур и, огибая большой вертел по каудальному краю опускается немного ниже, и закрепляется немного выше каудальной части поверхностной ягодичной мышцы.

Необходимо отметить, что на наружной поверхности перимизий средней и поверхностной ягодичных мышц, а также глубокая ягодичная фасция срастаются. Латеро-дистальным краем мышца срастается с латеро-дорсальным краем перимизия напрягателя широкой фасции бедра (рис. 2 Б- 2, 9).

Добавочная ягодичная мышца (m. glutaeus accessorius) – расположена под средней ягодичной мышцей. У мэйн-куна она имеет форму неравнобедренного треугольника (рис. 3 Б-4; рис. 4 Б, В-4), основание которого проходит по ягодичной линии подвздошной кости, до краниальной трети большой седалищной вырезки, которым мышца закрепляется на надкостнице данной кости. От краниального угла мышцы, расположенного ближе к вентральному краю подвздошной кости, или каудальнее маклока, мышечные волокна направляются в каудо-вентральном направлении, к большому вертелу бедренной кости. Кроме этого, от всего дорсального края (основания мышцы) мышечные волокна конвергируют к той же точке. Мы отметили, что на дистальном конце мышцы формируются сухожильные зеркала, они формируют мощное сухожилие, которым добавочная головка закрепляется на «шероховатости», расположенной на кранио-латеральной поверхности основания большого вертела бедренной кости, чуть ниже и впереди от места закрепления средней ягодичной мышцы. По характеру внутреннего строения, мышца относится к динамостатическому типу.

Грушевидная мышца (m. piriformis) – у мэйн-куна небольшая, мясистая, плоская, треугольной формы с удлилёнными краниальным и каудальным краями, относится к динамостатического типа мышцам. Снаружи она покрыта средней ягодичной мышцей, а сама она покрывает седалищный нерв и лежащий под ним глубокую ягодичную мышцу. Своим проксимальным концом (основанием) она начинается от латерального гребня крестцовой кости и от поперечно-рёберного отростка первого хвостового позвонка (рис. 3 А-3; рис. 4 Б, В-3). Мышечные волокна конвергируют в досровентральном направлении, к верхней точке большого вертела бедренной кости. На большей части внутренней поверхности, и начиная с нижней трети наружной поверхности мышцы, формируется сухожильное зеркало, переходящее в дистальное сухожилие. Эти обстоятельства свидетельствуют о том, что она является абдуктором тазобедренного сустава, а также, что мышца динамо-статического типа.

Глубокая ягодичная мышца (m. glutaeus profundus) у мэйн-куна также, треугольной формы (но короче предыдущей), мясистая, расположена под грушевидной мышцей, при этом её краниальный и каудальный края немного выступают их под грушевидной мышцы, и основания этих двух мышц разделяет пространство затянутое крестцово-седалищной связкой. Краниальным краем она граничит с добавочной ягодичной мышцей, а каудальным краем – с внутренней запирательной мышцей, при этом формирует с ними один мышечный пласт (рис. 4 Б, В-6).

Своим основанием, в виде плоского сухожилия, она начинается от гребня всей большой седалищной вырезки под-

вздошной кости и ости седалищной кости, а также от их латеральной поверхности, на которых формируется уплощённой формы вытянутая площадка данной мышцы (рис. 3 Б-5). Её мышечные волокна конвергируют от данного основания мышцы ко всей медиальной поверхности верхушки большого вертела бедренной кости (по всей её ширине), под сухожилием грушевидной мышцы, что является основанием утверждать функцию глубокой ягодичной мышцы у мэйн-куна – абдуктор и факультативный пронатор тазобедренного сустава. С внутренней поверхности мышца имеет слабо развитое сухожильное зеркало, что свидетельствует о том, что глубокая ягодичная мышца более динамическая, чем динамостатическая.

Внутренняя запирательная мышца (m. obturator internus) у мэйн-куна очень хорошо развита, сухожильная, трапецевидной формы (рис. 3 Б-6; рис. 4 А, Б, В-5). Основанием она закрепляется на внутренней поверхности таза, по окружности медио-каудо-латерального краёв запирательного отверстия. В области малой седалищной вырезки, она своим краниальным краем граничит с глубокой ягодичной мышцей. От места закрепления её мышечные и сухожильные волокна веерообразно конвергируют в краниальной части малой седалищной вырезке, через которую её сухожилие выходит на латеральную поверхность тела седалищной кости, и далее направляется в краниовентральном направлении, входит в вертлужную ямку бедренной кости вместе с сухожилием наружной запирательной мышцы. Внутренняя запирательная мышца у мэйн-куна является мощным супинатором тазобедренного сустава и относится к динамо-статического типа мышцам.

Наружная запирательная мышца (m. obturator externus) у мэйн-куна, аналогично внутренней запирательной мышце, основанием веерообразно начинается на площадке расположенной вокруг запертого отверстия, однако на наружной (вентральной) поверхности пластинки и ветви седалищной кости, а также каудальной ветви лонной кости. Мышечные волокна конвергируют кранио-латеродорсально (рис. 3 Б-7; рис. 4 Г-1) формируя относительно мощное сухожилие, которое входит в вертлужную ямку бедренной кости, и здесь закрепляется вместе с сухожилием внутренней запирательной мышцы. Брюшко мышцы закрывает снаружи (с вентральной поверхности) запертое отверстие и пронизана пучками сухожильных волокон, в связи с чем считаем, что наружная запирательная мышца относится к динамо-статическим мышцам. На наружной (вентральной) поверхности мышцы мы отметили, что сухожильное зеркало начинается с середины мышцы двумя потоками сухожильных волокон.

Двойничная мышца (m. gemellus) у мэйн-куна развита достаточно хорошо. Снаружи её прикрывает квадратная мышца бедра, а сама она располагается между латеральными краями запирательных мышц (рис. 3 Б- 8; рис. 4 Г-2). В виде небольшого плоского мускула, лежит на латеральной поверхности тела седалищной кости, между сухожилием внутреннего запирательного мускула и латеральным краем наружного запирательного мускула. Начинается она от мышечной площадки, расположенной на вентролатеральной поверхности пластинки седалищной кости, несколько краниниально от латерального выроста седалищного бугра, под площадкой закрепления позвоночной части двуглавой мышцы бедра. Мышечные волокна брюшка мышцы направлены кранио-вентрально, её сухожилие закрепляется также в вертлужной ямке, ниже точки закрепления запирательных мышц. Все три последние мышцы являются супинаторами тазобедренного сустава.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, у мэйн-куна основным экстензором тазобедренного сустава является *средняя ягодичная мышца*. Она самая мощная среди ягодичных мышц и по внутреннему строению – динамического типа.

Добавочная ягодичная мышца, являясь мышцей динамо-статического типа, вы-

полняет более статическую функцию в суставе, то есть при его разгибании удерживает сустав в этом положении более продолжительное время.

Грушевидная и глубокая ягодичная мышцы, закрепляясь основаниями на разных уровнях (грушевидная к латеральному гребню крестца и поперечному отростку первого хвостового позвонка, а глубокая ягодичная к гребню подвздошной кости и седалищной ости), а дистальными сухожилиями на вершине большого вертела являются синергистами в абдукции тазобедренного сустава.

Внутренняя и наружная запирательные мышцы, а также *двойничная мышца* являются супинаторами тазобедренного сустава.

Таким образом, нами установлены анатомические особенности ягодичной группы разгибателей и супинаторов тазобедренного сустава у кошки породы мэйн -кун, отсутствующие в доступной литературе. Нами показано, что мышцы ягодичной группы разгибателей относятся к разным типам мышц: средняя ягодичная – динамическая, добавочная, глубокая ягодичные и грушевидная – динамостатические.

ANATOMICAL AND TOPOGRAPHIC FEATURES OF THE GLUTEAL MUSCLE GROUP OF EXTENSORS AND ROTATORS OF THE HIP JOINT A MAINE COON CAT

Oganov E. O. – Candidate of Veterinary Sciences, Assoc. kaf. anatomy and Histology of Animals named after Professor A.F. Klimov (ORCID 0000-0003-1206-4397); **Slesarenko** N. A.* – Doctor of Biology, Prof. kaf. anatomy and histology of animals named after Professor A.F. Klimov (ORCID 0000-0002-8350-5965), **Shirokova E. O.** – Candidate of Biology, Associate Professor of the Faculty. Anatomy and histology of animals named after Professor A.F. Klimov, (ORCID 0000-0003-4891-5405).

K.I. Scriabin Moscow State Medical University

* slesarenko2009@yandex.ru

ABSTRACT

The article presents the anatomical features of the gluteal group of extensors and supinators of the hip joint in a Maine Coon cat, which are absent in the available literature. The Maine Coon is the largest of the numerous breeds of domestic cats. To date, the anatomy of cats, and even more so the age, sex, breed, and species characteristics remain poorly understood, while the study of the specific anatomical features of the pelvic limb muscles in animals is one of the urgent tasks in the field of comparative anatomy and practical veterinary medicine. We have established that the muscles of the gluteal extensor group belong to different types of muscles: the middle gluteal is dynamic, the additional and deep gluteal, the pear–shaped is dynamostatic, with appropriate functional abilities. The research was carried out at the Department of Anatomy and Histology of Animals named after Professor A.F. Klimov, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MBA named after K.I. Scriabin."The sectional material – pelvic limbs (n=8), selected from a domestic cat, without external signs of musculoskeletal pathologies, served as a material for research. Methods of fine macro- and microanatomic dissection were used, followed by functional analysis of the studied structures and skeletotopic projection of points of attachment of muscle parts. On the basis of the conducted research, we have established the skeleto-topical features of the anatomical formations on the pelvic and femur bones. It has been convincingly shown that the main extensor of the hip joint in the Maine Coon is the gluteus medius muscle. It is the most powerful among the gluteal muscles and belongs to the dynamic type in its internal structure. At the same time, the additional gluteus muscle, being a muscle of the dynamo-static type, performs a more static function of the joint, that is, when it is extended, it holds the joint in this position for a longer time. The piriformis and deep gluteus muscles, anchored by the bases at different levels, are synergists in hip abduction.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Былинская, Д. С. Мышцы тазовой конечности рыси евразийской / Д. С. Былинская // Иппология и ветеринария. – 2013. – № 1(7). – С. 35-40. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=19086971

2.Зеленевский, Н. В. Анатомия рыси евразийской / Н. В. Зеленевский, М. В. Щипакин, К. Н. Зеленевский (и др.); НЧОУ ВПО «Национальный открытый институт г. Санкт-Петербург». – Санкт-Петербург: Информационно-консалтинговый центр, 2015. – 166 с.

3.Муратова, А. Р. Морфофункциональные особенности мышц суставов тазовой конечности у хищных / А.Р. Муратова, М.В. Лазарева // Сборник III Всероссийской (национальной) научной конференции «Роль аграрной науки в устойчивом развитии сельских территорий». – 2018. – С. 750-753.

4. Новак, В. II. Моделирование процесса дифференцировки ткани собственных фасций конечностей домашних млекопитающих // Материалы научной конференции "Возрастная и экологическая морфология животных в условиях интенсивного животноводства". – Ульяновск, 1987. – С.54-56.

5. Слесаренко, Н. А. Морфофункциональные особенности строения мышц коленного сустава в зависимости от механизма статолокомоторного акта / Н. А. Слесаренко, Е. О. Широкова, В. А. Иванцов // Иппология и ветеринария. – 2022. – № 1 (43). – С. 160-167. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=48157513

6.Слесаренко, Н. А. Морфология матрикса собственных и поверхностных фасций конечности у некоторых плотоядных / Н. А. Слесаренко А. Е. Сербский // Вестник Белоцерковского государственного аграрного университета. – 1998. – Вып.6, – 4.2. – С.75-82.

7. Слесаренко, Н. А. Морфофункциональные особенности связочного аппарата коленного сустава у лисицы в условиях клеточного режима содержания / Н. А. Слесаренко, Е. О. Широкова, В. А. Иванцов // Морфология. – 2020. – Т. 157. – № 2-3. – С. 196.

8. Слесаренко, Н. А. Макроморфологическая характеристика мышц тазобедренного сустава у благородного пятнистого оленя / Н. А. Слесаренко, Э. О. Оганов, Е. О. Широкова // Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. – 2023. – № 1 – С. 63-71.

9. Широкова, Е. О. Анатомо-топографические особенности четырёхглавой мышцы бедра у благородного пятнистого оленя / Е. О. Широкова, Н. А. Слесаренко, Э. О. Оганов // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2023. – № 2. - С. 50-59.

10. Широкова, Е. О. Макроморфология четырехглавой мышцы бедра у амурского тигра / Е. О. Широкова, Н. А. Слесаренко, Э. О. Оганов // В сборнике: Морфология в XXI: теория, методология, практика. Москва, 2023. С. 51-53.

11. Сравнительная морфология скелета бедра кошки домашней и кролика / А. В. Прусаков, М. В. Щипакин, С. В. Вирунен [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2016. – № 3. – С. 80-83. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=26740166

12. Мельников, С. И. Артериальное кровоснабжение области бедра и голени шиншиллы длиннохвостой / С. И. Мельников // Актуальные вопросы науки и хозяйства: новые вызовы и решения: Сборник материалов LIII Международной студенческой научно-практической конференции, Тюмень, 29 марта 2019 года. Том Часть 1. – Тюмень: Государственный аграрный университет Северного Зауралья, 2019. – С. 25-28. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=39229846

13. Кровоснабжение области бедра и голени кролика породы немецкий великан / А. В. Прусаков, Н. В. Зеленевский, М. В. Щипакин [и др.] // Иппология и ветеринария. – 2018. – № 2 (28). – С. 100-103. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=35288796

14. Стратонов, А. С. Морфофункци-

ональная характеристика мускулатуры стило и зейгоподия у свиней породы ландрас в период новорожденности / А. С. Стратонов, М. В. Щипакин // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2016. – № 4. – С. 262-264. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=27515778

15. Стратонов, А. С. Морфометрическая характеристика пояса тазовой конечности у новорождённых свиней породы ландрас и йоркшир / А. С. Стратонов, М. В. Щипакин // Иппология и ветеринария. – 2018. – № 2(28). – С. 104-109. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=35288797

16. Яволовская, Я. О. Скелет пояса тазовой конечности соболя черной пушкинской породы в возрастном аспекте / Я. О. Яволовская, М. В. Щипакин // Иппология и ветеринария. – 2023. – № 1(47). – С. 118-128. – DOI 10.52419/2225-1537/2023.1.118-128. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=50433368

REFERENCES

1. Bylinskaya, D. S. Muscles of the pelvic limb of the Eurasian lynx / D. S. Bylinskaya // Hippology and veterinary medicine. – 2013. – № 1(7). – Pp. 35-40. Access mode: https://elibrary.ru/item.asp?id=19086971

2. Zelenevsky, N. V. Anatomy of the Eurasian lynx / N. V. Zelenevsky, M. V. Shchipakin, K. N. Zelenevsky (et al.); NCHOU VPO "National Open Institute of St. Petersburg". – St. Petersburg: Information and Consulting Center, 2015. – 166 p.

3. Muratova, A. R. Morphofunctional features of the muscles of the joints of the pelvic limb in predatory animals / A.R. Muratova, M.V. Lazareva // Collection of the III All-Russian (national) scientific conference "The role of agrarian science in the sustainable development of rural areas". - 2018. – pp. 750-753.

4. Novak, V. II. Modeling of the process of differentiation of tissue of own fascia of limbs of domestic mammals // Proceedings of the scientific conference "Age and ecological morphology of animals in conditions of intensive animal husbandry". Ulyanovsk, 1987. pp.54-56.

5. Slesarenko, N. A. Morphofunctional features of the structure of the knee joint muscles depending on the mechanism of the statolocomotor act / N. A. Slesarenko, E. O. Shirokova, V. A. Ivantsov // Hippology and veterinary medicine. – 2022. – № 1 (43). – Pp. 160-167. Access mode: https://elibrary.ru/item.asp?id=48157513

6. Slesarenko, H. A., Serbsky, A. E. Morphology of the matrix of proper and superficial fascia of the limb in some carnivores// Bulletin of the Belotserkovsky State Agrarian University. – 1998. – Issue 6, – 4.2. – pp.75-82.

7. Slesarenko, N. A. Morphofunctional features of the ligamentous apparatus of the knee joint in a fox in conditions of a cellular maintenance regime / N. A. Slesarenko, E. O. Shirokova, V. A. Ivantsov // Morphology. – 2020. – Vol. 157. – No. 2-3. – p. 196.

8. Slesarenko, N. A. Macromorphological characteristics of the muscles of the hip joint in the noble spotted deer / N. A. Slesarenko, E. O. Oganov, E. O. Shirokova // Proceedings of the Samara State Agricultural Academy. – 2023. – No. 1 – pp. 63-71.

9. Shirokova, E. O. Anatomical and topographic features of the quadriceps femoral muscle in the red spotted deer / E. O. Shirokova, N. A. Slesarenko, E. O. Oganov // Veterinary medicine, animal science and biotechnology. – 2023. – No. 2. - pp. 50-59.

10. Shirokova, E. O. Macromorphology of the quadriceps femoral muscle in the Amur tiger / E. O. Shirokova, N. A. Slesarenko, E. O. Oganov // In the collection: Morphology in the XXI: theory, methodology, practice. Moscow, 2023. pp. 51-53.

11. Comparative morphology of the femoral skeleton of a domestic cat and a rabbit / A.V. Prusakov, M. V. Shchipakin, S. V. Virunen [et al.] // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2016. – No. 3. – pp. 80-83. Access mode: https://elibrary.ru/item.asp?id=26740166

12. Melnikov, S. I. Arterial blood supply to the thigh and shin area of chinchilla longtail / S. I. Melnikov // Actual issues of sci-

ence and economics: new challenges and solutions: Collection of materials of the LIII International Student Scientific and Practical Conference, Tyumen, March 29, 2019. Volume Part 1. – Tyumen: State Agrarian University of the Northern Urals, 2019. – pp. 25 -28. Access mode: https://elibrary.ru/item.asp?id=39229846

13. Blood supply to the thigh and shin area of a German giant rabbit / A.V. Prusakov, N. V. Zelenevsky, M. V. Shchipakin [et al.] // Hippology and veterinary medicine. – 2018. – № 2(28). – Pp. 100-103. Access mode: https://elibrary.ru/item.asp?id=35288796

14. Stratonov, A. S. Morphofunctional characteristics of the muscles of the stilo and zeigopodium in landrace pigs during the newborn period / A. S. Stratonov, M. V. Shchipakin // Questions of normative legal regulation in veterinary medicine. – 2016. – No. 4. – pp. 262-264. Access mode: https://elibrary.ru/item.asp?id=27515778

15. Stratonov, A. S. Morphometric characteristics of the pelvic limb girdle in newborn pigs of the Landrace and Yorkshire breed / A. S. Stratonov, M. V. Shchipakin // Hippology and veterinary medicine. – 2018. – № 2 (28). – Pp. 104-109. Access mode: https://elibrary.ru/item.asp?id=35288797

16. Yavolovskaya, Ya. O. The skeleton of the pelvic limb belt of the sable of the black Pushkin breed in the age aspect / Ya. O. Yavolovskaya, M. V. Shchipakin // Hippology and veterinary medicine. – 2023. – № 1(47). – Pp. 118-128. – DOI 10.52419/2225-1537/2023.1.118-128. Access mode: https://elibrary.ru/item.asp?id=50433368

УДК: 611.137.8:599.742.31
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.244

АРТЕРИАЛЬНЫЕ МАГИСТРАЛИ СТОПЫ АМЕРИКАНСКОГО ЕНОТА (PROCYON LOTOR)

Былинская, Д.С. * – канд. ветеринар. наук, доц. каф. анатомии животных (ORCID 0000-0001-9997-5630); **Щипакин, М.В.** – д-р ветеринар. наук, проф., зав. кафедрой анатомии животных (ORCID 0000-0002-2960-3222).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* goldberg07@mail.ru

Ключевые слова: *американский енот, стопа, артерии, дорсальная артерия, пальцевые артерии.*
Key words: *American raccoon, foot, arteries, dorsal artery, finger arteries.*

Поступила: 13.02.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Сосудистая система является одной из интегрирующих систем организма человека и животных. Ход и ветвление сосудов различных областей тела подчиняется общим закономерностям. Однако вариативность сосудистого русла достаточно высока даже в рамках одного вида животного. Отсутствие данных и топографии и особенностях ветвления артериального русла затрудняет проведение диагностических и лечебных манипуляций. Кроме того, полученные в ходе исследования данные значительно обогащают имеющиеся сведения по сравнительной анатомии сосудистого русла. Цель исследования – изучить основные артериальные магистраль области стопы американского енота, дать им морфометрическую характеристику. Исследования проводились на четырех трупах американского енота, доставленных на кафедру анатомии животных Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины из ветеринарных клиник. В качестве методов исследования были выбраны классические методики: тонкое анатомическое препарирование, морфометрия, фотографирование и вазорентгенография. При исследовании было установлено, что на стопе у американского енота различают две артериальные магистрали. Дорсальная магистраль представлена дорсальной артерией стопы, плантарная магистраль – средней плантарной артерией. Дорсальная артерия стопы переходит в дуговую артерию – первый анастомоз, объединяющий сосуды двух магистралей. Средняя плантарная артерия дает начало второй и третьей плантарным плюсневым артериям и участвую в формировании глубокой плантарной дуги, которая является вторым крупным анастомозом области стопы. Осевые и неосевые пальцевые артерии также формируют коллатеральный кровоток. Анализирую полученные морфометрические данные артериальных магистралей следуют заключить, что наибольший диаметр имеют магистрали плантарной поверхности. Так диаметр средней плантарной артерии в 1,72 раза превышает аналогичный параметр дорсальной артерии стопы. Наибольший суммарный диаметр характерен артерий, расположенных в области плюсны, наименьший в области заплюсны.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Американский енот (Procyon lotor), или енот-полоскун является представителем отряда хищных, семейства енотовых. Американским назван в виду естественного ареала своего обитания – лесов Северной Америки. В России енот-полоскун является единственным представителем своего семейства и в дикой природе встречается в Южном (Краснодарский край) и Северо-Кавказском (Республика Дагестан) Федеральных округах. Значительное распространение данный вид животного получил в качестве обитателей контактных зоопарков и домашних питомцев. Сосудистая система является одной из интегрирующих систем организма человека и животных [1, 2]. Ход и ветвление сосудов различных областей тела подчиняется общим закономерностям [3, 4]. Однако вариативность сосудистого русла достаточно высока даже в рамках одного вида животного [5, 6]. Отсутствие данных и топографии и особенностях ветвления артериального русла затрудняет проведение диагностических и лечебных манипуляций. Кроме того, полученные в ходе исследования данные значительно обогащают имеющиеся сведения по сравнительной анатомии сосудистого русла [7, 8, 9]. Изучив доступную нам литературу, мы не встретили сведений, касающихся артериального русла области стопы у американского енота.

В связи со сказанным выше мы поставили перед собой цель исследования – изучить основные артериальные магистраль области стопы американского енота, дать им морфометрическую характеристику.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHOD

Материалом для исследования послужили трупы американского енота, доставленные на кафедру анатомии животных Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины из ветеринарных клиник Санкт-Петербурга. В исследования включили половозрелых особей, всего исследовано 8 тазовых конечностей.

В качестве метода исследования была выбрана вазорентгенография. При проведении последней в качестве рентгеноконтрастной массы использовали массу для инъекций, приготовленную по прописи: 45% – свинцовых белил, 45% – живичного скипидара, 10% – порошка медицинского гипса [10, 11, 13]. Перед инъекцией подготавливали материал: трупы разогревали в течение 2-3 часов на водяной бане при температуре 40-45°С. Инъекцию рентгеноконтрастной массы проводили через брюшную аорту. После инфузии сосудистого русла объекты исследования помещали в 10% раствор формалина на 3-5 суток. Затем проводили тонкое анатомическое препарирование, а также рентгенографию в дорсальной и латеральной проекциях. Морфометрию артерий проводили в компьютерного программе RadiAnt. При указании анатомических терминов использовали международную ветеринарную анатомическую номенклатуру [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В ходе исследования было установлено, что артериальное русло стопы американского енота берет начало от двух магистралей, расположенных в области голени: краниальной большеберцовой артерии и артерии сафена.

Краниальная большеберцовая артерия (a. tibialis cranialis) располагается на краниомедиальной поверхности большой берцовой кости и имеет небольшой просвет, который в среднем составляет 0,78±0,05 мм. Опускаясь дистально, она переходит на дорсальную поверхность заплюсневого сустава, где на уровне центрального ряда костей заплюсны отдает медиальную и латеральную заплюсневые артерии (aa. tarseae medialis et lateralis) и продолжается в дистальном направлении как дорсальная артерия стопы. Заплюсневые артерии имеют извилистый ход и направляются на плантарную поверхность. Латеральная заплюсневая артерия располагается по сухожилию бокового разгибателя пальцев. Диаметр заплюсневых артерий достигает значения 0,53±0,02 мм.

Дорсальная артерия стопы (a. dorsalis pedis) следует 1,77±0,15 см дистально, вдоль медиального края сухожилия длинного разгибателя пальцев. В проксимальной трети плюсны она резко меняет направление своего хода и направляется на плантарную поверхность стопы как дуговая артерия (a. arcuata). Диаметр дорсальной артерии стопы составляет 0,65±0,03 мм, в то время как дуговая артерия имеет больший диаметр – 0,83±0,05 мм.

Дуговая артерия, располагаясь поперечно, отдает несколько проксимально направленных ветвей, а дистально дает начало дорсальным плюсневым артериям (aa. metatrseae dorsalis II-IV), средний диаметр которых составил 0,44±0,03 мм. Дорсальные плюсневые артерии принимают участие в формировании глубокой плантарной дуги (arcus plantaris profundus).

Следует отметить, что в кровоснабжении дорсальной поверхности стопы у енота принимает участие так же поверхностная ветвь краниальной большеберцовой артерии (ramus superficialis), которая ответвляется от магистральной артерии на уровне проксимальной трети голени, следует поверхностно и на уровне проксимальной трети плюсны переходит в дорсальную пальцевую пятую артерию (a. digitalis dorsalis V). Диаметр поверхностной ветви составляет 0,36±0,03 мм.

Артерия сафена (a. saphena) является основной артериальной магистралью плантарной поверхности стопы. Она ответвляется от бедренной артерии на уровне дистальной трети бедренной кости и следует по каудомедиальной поверхности голени к области заплюсны. Достигнув пяточной кости, артерия сафена отдает пяточные ветви (rami calcanei), после чего продолжается как средняя плантарная артерия (a. plantaris media). Её диаметр почти в два раза превышает диаметр дорсальной артерии стопы и составляет 1,12±0,06 мм.

Средняя плантарная артерия сопровождает сухожилие поверхностного сгибателя пальцев и на уровне середине плюсны отдает поверхностную ветвь – вторую плантарную плюсневую артерию (a. metatarseae plantaris II), диаметром 0,68±0,07 мм. После этого, следует дистально около сантиметра и отдает третью плантарную плюсневую артерию, после чего как четвертая плантарная плюсневая артерия вливается в глубокую плантарную дугу.

Вторая плантарная плюсневая артерия следует дистально между первой и второй плюсневыми костями, по своему ходу отдавая мелкие дорсальные ветви. На уровне проксимального эпифиза первой фаланги она разделяется на осевую артерию первого пальца, диаметром 0,41±0,02 мм, и неосевую артерию второго пальца, диаметром 0,20±0,01 мм.

До места вливания в глубокую плантарную дугу от средней плантарной артерии отходит третья плантарная плюсневая артерия (a. metatarseae plantaris III), диаметром 0,77±0,04 мм. Она косо пересекает дистальную треть второй плюсневой кости и на уровне её дистального эпифиза отдает осевую артерию второго пальца, диаметром 0,57±0,03 мм, и неосевую артерию третьего пальца, диаметром 0,22±0,02 мм.

Глубокая плантарная дуга (arcus plantaris profundus) располагается в области дистальной трети плюсны. Она образуется путем анастомозирования артерий дорсальной и плантарной поверхностей. Так, в нее вливаются дорсальные плюсневые артерии и четвертая плантарная плюсневая артерия (a. metatarseae plantaris IV). Последняя является самой крупной ветвью средней плантарной артерии, её диаметр достигает значения 1,06±0,07 мм.

Глубокая плантарная дуга располагается в проксимальной трети третьей и четвертой плюсневых костей и является крупным анастомозом дорсальных и плантарных артерий стопы. Из нее начинаются два сосуда: общим стволом третья и четвертая общие плантарные пальцевые артерии (aa. digitales plantares communes III et IV) и пятая общая плантарная пальцевая артерия.

Диаметр общего ствола третьей и чет-

вертой общих плантарных пальцевых артерий составляет 0,90±0,05 мм. В пространстве между третьим и четвертым пальцами он разделяется на осевую артерию третьего пальца, диаметром 0,68±0,05 мм, и осевую артерию четвертого пальца, диаметром 0,73±0,05 мм.

Диаметр пятой общей плантарной пальцевой артерии составляет 0,90±0,12 мм. Она косо пересекает четвертую плюсневую кость, на уровне дистального эпифиза в нее вливается дорсальная пальцевая пятая артерия, после чего она разделяется на неосевую артерию четвертого пальца, диаметром 0,20±0,02 мм, и осевую артерию пятого пальца, диаметром 0,49±0,05 мм. Следует так же отметить, что каждая осевая пальцевая артерия отдает коллатеральные сосудистые ветви, которые вливаются в неосевые артерии соответствующего пальца.

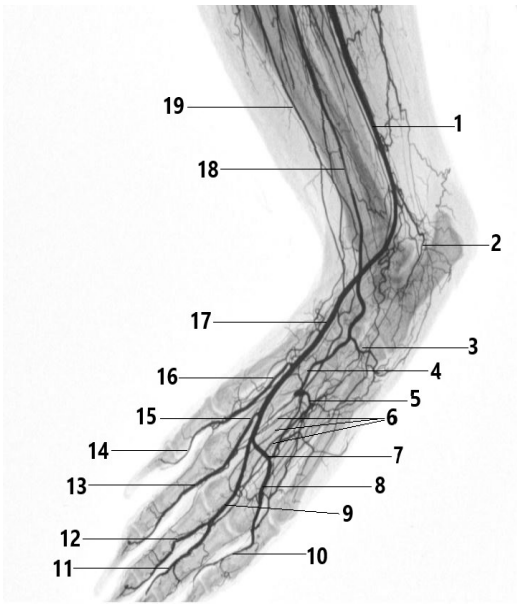


Рисунок 1 – Артерии области стопы американского енота. Вазорентгенограмма, дорсальная проекция: 1 – артерия сафена; 2 – пяточные ветви; 3 – латеральная заплюсневая артерия; 4 – дорсальная артерия стопы; 5 – дуговая артерия; 6 – дорсальные плюсневые артерии; 7 – глубокая плантарная дуга; 8 – пятая общая плантарная пальцевая артерия; 9 – четвертая общая плантарная пальцевая артерия; 10 – осевая артерия пятого пальца; 11 – осевая артерия четвертого пальца; 12 – осевая артерия третьего пальца; 13 – осевая артерия второго пальца; 14 – осевая артерия первого пальца; 15 – третья плантарная плюсневая артерия; 16 – вторая плантарная плюсневая артерия; 17 – средняя плантарная артерия; 18 – краниальная большеберцовая артерия; 19 – поверхностная ветвь краниальной большеберцовой артерии.

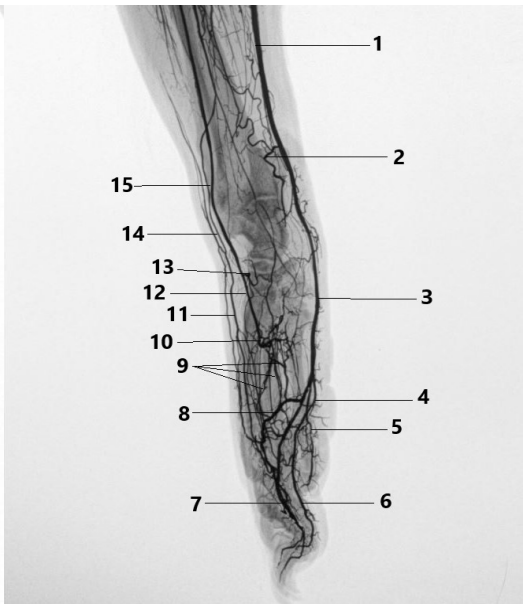


Рисунок 2 – Артерии области стопы американского енота. Вазорентгенограмма, боковая проекция: 1 – артерия сафена; 2 – пяточные ветви; 3 –средняя плантарная артерия; 4 - третья плантарная плюсневая артерия; 5 - осевая артерия первого пальца; 6 – осевая артерия второго пальца; 7 – осевая артерия третьего пальца; 8 – глубокая плантарная дуга; 9 - дорсальные плюсневые артерии; 10 – дуговая артерия; 11 – дорсальная пальцевая пятая артерия; 12 – дорсальная артерия стопы; 13 – латеральная заплюсневая артерия; 14 – поверхностная ветвь краниальной большеберцовой артерии; 15 – краниальная большеберцовая артерия.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, при исследовании было установлено, что на стопе у американского енота различают две артериальные магистрали. Дорсальная магистраль представлена дорсальной артерией стопы, плантарная магистраль – средней плантарной артерией. Дорсальная артерия стопы переходит в дуговую артерию – первый анастомоз, объединяющий сосуды двух магистралей. Средняя плантарная артерия дает начало второй и третьей плантарным плюсневым артериям и участвую в формировании глубокой плантарной дуги, которая является вторым крупным анастомозом области стопы. Осевые и неосевые пальцевые артерии также формируют коллатеральный кровоток.

Анализирую полученные морфометрические данные артериальных магистралей следуют заключить, что наибольший диаметр имеют магистрали плантарной поверхности. Так диаметр средней плантарной артерии в 1,72 раза превышает аналогичный параметр дорсальной артерии стопы. Наибольший суммарный диаметр характерен артерий, расположенных в области плюсны, наименьший в области заплюсны.

ARTERIAL HIGHWAYS OF THE FOOT OF THE AMERICAN RACCOON (PROCYON LOTOR)

Bylinskaya, D.S. * – Candidate of Veterinary Sciences, associate professor Department of animal anatomy (ORCID 0000-0001-9997-5630), **Shchipakin, M.V.** – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Head of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0000-0002-2960-3222).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* goldberg07@mail.ru

ABSTRACT

The vascular system is one of the integrating systems of the human and animal body. The course and branching of the vessels of various areas of the body follows general patterns. However, the variability of the vascular bed is quite high even within a single species of animal. The lack of data on both the topography and the peculiarities of arterial branching makes it difficult to carry out diagnostic and therapeutic manipulations. In addition, the data obtained during the study significantly enrich the available information on the comparative anatomy of the vascular bed. The purpose of the study is to study the main arterial arteries of the American raccoon foot area, to give them a morphometric characteristic. The research was carried out on 4 corpses of an American raccoon, delivered to the Department of Animal Anatomy of the St. Petersburg State University of Veterinary Medicine from veterinary clinics. Classical methods were chosen as research methods: fine anatomical dissection, morphometry, photographing and vasorentgenography. During the study, it was found that two arterial highways are distinguished on the foot of the American raccoon. The dorsal trunk is represented by the dorsal artery of the foot, the plantar trunk is represented by the middle plantar artery. The dorsal artery of the foot passes into the arc artery – the first anastomosis that unites the vessels of the two highways. The middle plantar artery gives rise to the second and third plantar metatarsal arteries and participates in the formation of a deep plantar arch, which is the second major anastomosis of the foot area. Axial and non-axial finger arteries also form collateral blood flow. Analyzing the obtained morphometric data of arterial highways, it follows to conclude that the plantar surface highways have the largest diameter. Thus, the diameter of the middle plantar artery is 1.72 times higher than the same parameter of the dorsal artery of the foot. The largest total diameter is characteristic of the arteries located in the metatarsal region, the smallest in the area of the metatarsal.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Зеленевский, Н. В. Анатомия и физиология сельскохозяйственных животных: Учебник для СПО / Н. В. Зеленевский, М. В. Щипакин, К. Н. Зеленевский. – Санкт-

Петербург: Издательство "Лань", 2022. – 448 с.
2.Слесаренко, Н. А. Анатомия интегрирующих систем животных: сердечно-сосудистая, эндокринная и нервная / Н. А. Слесаренко, Г. А. Ветошкина, Е. О. Широкова. – Москва: ООО " ЭйБиЭс", 2017. – 122 с.
3.Щипакин, М. В. Возрастные закономерности васкуляризации органов тазовой конечности и тазовой полости хоря золотистого: специальность 16.00.02: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук / Щипакин Михаил Валентинович. – Санкт -Петербург, 2007. – 17 с.
4.Артерии большого круга кровообращения плода кошки / Д. С. Былинская, М. В. Щипакин, Н. В. Зеленевский [и др.] // Иппология и ветеринария. – 2018. – № 3(29). – С. 102-107.
5.Хватов, В. А. Морфология дуги аорты и её ветвей у кошек породы мейн-кун / В. А. Хватов, М. В. Щипакин, С. С. Глушонок // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2022. – № 3(64). – С. 142-148.
6.Хватов, В. А. Особенности хода и ветвления коронарных артерий сердца коз англо-нубийской породы / В. А. Хватов, М. В. Щипакин // Международный вестник ветеринарии. – 2019. – № 2. – С. 116-119.
7.Былинская, Д. С. Возрастная морфодинамика артерий дорсальной поверхности пальцев рыси евразийской / Д. С. Былинская // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2014. – Т. 220, № 4. – С. 42-45.
8.Артериальное кровоснабжение свободной тазовой конечности немецкой овчарки / Д. С. Былинская, А. В. Прусаков, Н. В. Зеленевский [и др.] // Иппология и ветеринария. – 2019. – № 2(32). – С. 106-110.
9.Артериальное кровоснабжение области стопы кошки домашней / М. В. Щипакин, Н. В. Зеленевский, А. В. Прусаков [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2018. – № 1. – С. 135-137.
10.Универсальные методики изучения артериальной системы животных / М. В. Щипакин, Ю. Ю. Бартенева, Д. С. Былинская, Д. В. Васильев, А. С. Стратонов, В. А. Хватов // Актуальные проблемы ветеринарной морфологии и высшего зооветеринарного образования: Сборник трудов Национальной научно-практической конференции с международным участием, Москва, 14–16 октября 2019 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина», 2019. – С. 66-70.
11.Патент № 2530159 C1 Российская Федерация, МПК A61K 49/04, A01N 1/02. Способ изготовления рентгеноконтрастной массы для вазорентгенографии при посмертных исследованиях животных: № 2013117666/13: заявл. 16.04.2013: опубл. 10.10.2014 / М. В. Щипакин, А. В. Прусаков, Д. С. Былинская, С. А. Куга; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины" (ФГБОУ ВПО СПБГАВМ).
12.Багатомовний словник анатомічних термінів (українсько-латинсько-англійсько-російсько-білорусько-польсько-румунський): Навчальний посібник / В. А. Костюк, E. Pasicka, M. В. Щипакин [et al.]. – Київ: Аграр Медіа Груп, 2016. – 840 p.
13.Кровоснабжение области бедра и голени кролика породы немецкий великан / А. В. Прусаков, Н. В. Зеленевский, М. В. Щипакин [и др.] // Иппология и ветеринария. – 2018. – № 2(28). – С. 100-103.

REFERENCES

1. Zelenevsky, N. V. Anatomy and physiology of farm animals: textbook for SPO / N. V. Zelenevsky, M. V. Shchipakin, K. N. Zelensky. - St. Petersburg: Lan Publishing House, 2022. - 448 p.

2. Slesarenko, N. A. Anatomy of integrating animal systems: cardiovascular, endocrine and nervous / N. A. Slesarenko, G. A. Vetoshkina, E. O. Shirokova. - Moscow: Abis LLC, 2017. - 122 p.
3. Shchipakin, M. V. Age-related patterns of vascularization of the organs of the pelvic limb and pelvic cavity of the golden ferret: specialty 16.00.02: abstract of the dissertation for the degree of candidate of veterinary sciences / Shchipakin Mikhail Valentinovich. -St. Petersburg, 2007. - 17 P.
4. Arteries of the large circulatory circle of the fetal cat / D. S. Bylinskaya, M. V. Shchipakin, N. V. Zelenevsky et al./ / Hippology and veterinary medicine. – 2018. – № 3(29). – Pp. 102-107.
5. Kvartov, V. A. Morphology of the aortic arch and its branches in Maine Coon cats / V. A. Kvartov, M. V. Shchipakin, S. S. Glushonok / / Bulletin of the NGAU (Novosibirsk State Agrarian University). – 2022. – № 3(64). – Pp. 142-148.
6. Kvartov, V. A. Features of the course and branching of the coronary arteries of the heart of goats of the Anglo-Nubian breed / V. A. Kvartov, M. V. Shchipakin / / International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2019. – No. 2. – pp. 116-119.
7. Bylinskaya, D. S. Age-related morphodynamics of arteries of the dorsal surface of Eurasian finger lynxes / D. S. Bylinskaya / / Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. - 2014. – Vol. 220, No. 4. – pp. 42-45. – EDN TDRLVX.
8. Arterial blood supply to the free pelvic limb of the German Shepherd / D. S. Bylinskaya, A.V. Prusakov, N. V. Zelenevsky et al./ / Hippology and veterinary medicine. – 2019. – № 2(32). – Pp. 106-110.
9. Arterial blood supply to the cat's foot area / M. V. Shchipakin, N. V. Zelenevsky, A.V. Prusakov, etc.] / / Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. - 2018. – No. 1. – pp. 135-137.
10. Universal methods of studying the arterial system of animals / M. V. Shchipakin, Yu. Yu. Barteneva, D. S. Bylinskaya,D. V. Vasiliev, A. S. Stratonov, V. A. Khvatov / / actual problems of veterinary morphology and higher veterinary education: proceedings of the National Scientific and practical conference with international participation, Moscow, October 14-16, 2019. - Moscow: Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology-MBA named after K.I. Scriabin", 2019. – pp. 66-70.
11. Patent No. 2530159 C1 of the Russian Federation, IPC A61k 49/04, A01n 1/02. Method of manufacturing X-ray contrast mass for vasorentgenography in postmortem studies of animals: No. 2013117666/13: application 04/16/2013: publ. 10.10.2014 / M. V. Shchipakin, A.V. Prusakov, D. S. Bylinskaya,S. A. Kuga; federal State budgetary educational institution of higher professional education "St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine" (FGBOU VPO Spbgavm).
12. Bagatomov dictionary of anatomical terms (Ukrainian-Latin-English-Russian-Belarusian-Polish-Rumunsky): Navchalny posibnik / V. A. Kostyuk, E. Pasicka, M. V. Shchipakin [et al.]. Kiev: Agrarian Media Group, 2016. – 840 p.
13. Blood supply to the thigh and shin area of the German giant rabbit / A.V. Prusakov, N. V. Zelenevsky, M. V. Shchipakin [et al.] // Hippology and veterinary medicine. – 2018. – № 2(28). – Pp. 100-103.

УДК: 611.127: 598.252.1
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.251

ОСОБЕННОСТИ АНАТОМИИ ПРАВОЙ ПОЛОВИНЫ СЕРДЦА У ГОГОЛЯ ОБЫКНОВЕННОГО (BUCEPHALA CLANGULA)

Тарасевич В.Н. [1] * – канд. ветеринар. наук, зав. каф. специальных ветеринарных дисциплин (ORCID 0000-0001-8736-9895); **Жилин Р.А.** [2] – канд. ветеринар. наук, доц. института животноводства и ветеринарной медицины (ORCID 0000-0002-7523-5619); **Басацкая Ю.С.** [1] – студ.; **Тарасевич А.Н.** [3] – студ.

[1] ФГБОУ ВО «Иркутский государственный аграрный университет имени А.А. Ежевского»;
[2] ФГБОУ ВО «Приморская государственная сельскохозяйственная академия»;
[3] ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет».

* tarasevich7239@mail.ru

Ключевые слова: обыкновенный гоголь, морфология сердца, мышечный клапан, сосудистый конус, правый желудочек, правое предсердие.
Key words: common gogol, morphology of the heart, muscular valve, vascular cone, right ventricle, the right atrium.

Поступила: 07.02.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ
Обыкновенный гоголь (Bucephala clangula) – морская утка, которая относится к отряду гусеобразные и семейству – утиные. В силу образа жизни способны задерживать дыхание до 30 минут и погружаться на глубину до 10 метров. Такая нагрузка на организм утки, способствует не только перестройки морфологических структур, но и усилению работы сердца. Анализ источников показал изученность морфологии сердца у млекопитающих и птиц, однако работ по морфологии правой половины сердца у обыкновенного гоголя не обнаружено, что и послужило целью нашего исследования. Материалом служили сердца, от самцов обыкновенного гоголя – возраста 1,5-2 лет (n=3), добытых на заливе реки Ангара. Таким образом, сердечный индекс у обыкновенного гоголя определился на уровне 83%, и со стороны венечной и парапрокональной борозды отмечено наличие эпикардиального жира. Правый желудочек располагается выше уровня верхушки левого желудочка, и на 70,7% окружает границы левого желудочка. Свободные ушки предсердия образованы с участием восьми гребешковых мышц, которые в виде гребня начинаются от мышечного клапана, а дорсомедиально ближе к синусу предсердия, истончаются и объединяются в одной точке. Длина гребешковых мышц колеблется на уровне 8,2±0,54 мм, толщина 0,83±0,02 мм. Правый желудочек отделен от предсердия мышечным клапаном, который имеет свои особенности закрепления, где его высокая часть идет от уровня субсинуозной борозды (межжелудочковой перегородки), формирует пристеночную часть атриовентрикулярного отверстия и на уровне сосудистого конуса незначительно сужается и закрепляется

двумя частями к стенке желудочка. Со стороны правого желудочка трабекулы выражены только под мышечным клапаном, где перекладины направлены слева направо и вниз, от его сужения. Перекладины длиной 6,9±0,23 и шириной 0,83±0,03 мм, перемычками до 1 мм.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Обыкновенный гоголь (Bucephala clangula) – относится к морским уткам средней величины, с округлой большой головой (теменная область вытянута и заострена), коротким, высоким у основания и зауженным на кончике – клювом. Оперение представлено в черно-белом цвете. При этом в области головы, спины и хвоста оно насыщено черным с зеленоватым переливом, хорошо заметным на солнце, а чуть позади основания клюва, заметны белые «монетки». На крыльях буро-черные (темно-серые) перья, а в области шеи, боков и живота они белоснежные. Радужка глаз с возрастом приобретает золотисто-желтый цвет [1].

Самцы крупнее самок, и весят от 0,75 до 1,25 кг, длина тела не более 50 см и размах крыла 65-85 см. В рационе птицы преобладают водные беспозвоночные, насекомые, личинки, а на растительные корма приходится незначительный процент [2, 3]. Утка является хорошим ныряльщиком, где погружается на глубину до 10 м и задерживает дыхание свыше 30 секунд [3]. Такая нагрузка на организм утки, способствует не только перестройки различных морфологических структур, в частности черепа и челюстно-лицевого аппарата [4], желудка [5], но и усиления работы мышечного органа (сердца), обеспечивающего циркуляцию крови по кругам кровообращения [6].

Среди всего разнообразия литературы, затрагивающей особенности морфологии сердца и его структур, можно отметить изученность его в основном у млекопитающих: коз англо-нубийской породы [7], бурого медведя [8], водяного оленя [9], рыси евразийской [10], носухи [12], сибирской косули [12] и др. [13]. Также изучена она и со стороны некоторых птиц, у утки пекинской [14], курицы и гуся [15]. Однако работ по особенностям морфологии сердца такого представителя как обыкновенный гоголь, нами не обнаружено, что служило целью нашего исследования. Цель исследования – изучить особенности морфологии правой половины сердца у обыкновенного гоголя.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHOD S

Сердце получено от дикой утки породы обыкновенный гоголь, из отряда – гусеобразные, семейства – утиные и род – Гоголи. Материалом служили самцы в возрасте от 1,5 до 2 лет (n=3), добытые на заливе реки Ангары Иркутской области. В своей работе использовали общепринятые морфологические техники: определение места доступа к анатомическим структурам, зарисовки и снятие промеров основных морфологических образований, фотографирование и использование методики целостной фиксации органа [16, 17]. Во время препарирования структур сердца, поверхность постоянно орошалась водой, с целью исключения высыхания материала. Возраст и пол птицы определяли по внешнему оперению и отличительным признакам. Доступ к эндокардиальным образованиям правого желудочка обеспечивался через стенку правого желудочка, на уровне начального участка сосудистого конуса.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Сердце у обыкновенного гоголя сформировалось на фоне сдавливания его объема спереди назад, и на уровне основания сердца (в поперечнике) определяется его овальная форма. При широком его основании и некотором сужение у нижних границ уровня правого желудочка, просматривается его конусовидная форма. Однако, у обыкновенного гоголя сердечный индекс определяется на уровне 0,83 или 83%, что составляет по данным авторов – шаровидную форму сердца (более 75%) [9]. У таких представителей как водяной олень и байкальский тюлень тоже отмечена шаровидная форма сердца [9,13], у сибирской косули и носуха – эллипсоидная [11, 12], а у европейской ко-

сули – расширенно конусовидная или конусовидная [18].

Правая половина сердца образована предсердием и желудочком, которые между собой разделяются мышечным клапаном. Однако у млекопитающих в основании атриовентрикулярного отверстия просматриваются створки клапана, создающие препятствие для обратного тока крови [7, 11, 19].

По внешним границам правого желудочка отмечено наличие эпикардиального жира, который выражен на уровне венечной и паракональной борозды. При этом правый желудочек не участвует в образовании верхушки сердца, и располагается выше ее уровня. У основания сердца, сверху, просматривается полулунная его форма, которая практически на 70,7% окружает границы левого желудочка (рис. 1). Правое предсердие у обыкновенного гоголя получило большее развитие, по сравнению с левым, и построено из гребешковых мышц – формирующих основу ушка предсердия. В предсердие открывают протоки легочные вены и большая сердечная вена, которая имеет выраженный синус.

У исследуемого вида, в правом предсердии было обнаружено до 8-ми гребешковых мышц, которые в виде гребня начинаются от дорсального края мышечного клапана. При этом, направляясь дорсо-медиально от уровня мышечного клапана, они истончаются и объединяются в одной точке (рис. 2). Однако, по данным Цускман И.Г., Фоменко Л.И. (2014), у домашней птицы определяется наличие межпредсердного мощного гребня, который отдает гребешковые мышцы не только в правое (шесть) предсердие, но и левое (шесть-семь) [14, 15].

Длина гребешковых мышц нырковой утки у правого предсердия колеблется на уровне 8,2±0,54 мм, а значение их толщины определялось в пределах 0,83±0,02 мм. Внутренняя архитектоника правого желудочка представлена таким образом, что со стороны межжелудочковой перегородки поверхность гладкая, гладкая она и в области сосудистого конуса. Однако на уровне стенки, под мышечным клапаном, стенка имеет выраженную трабекуляцию. Просматривается она по направлению слева направо и вниз, от сужения мышечного клапана к уровню субсинуозной борозды. Трабекуляция правого желудочка имеет перекладины – шириной 0,83±0,03 и длиной 6,9±0,23 мм, и перемычки, определяемыми на уровне одного мм.

В основании желудочка имеется мышечный клапан, который располагается таким образом, что высокая его часть идет от уровня субсинуозной борозды (межжелудочковой перегородки), формирует пристеночную часть атриовентрикулярного отверстия и в направлении сосудистого конуса закрепляется двумя частями к стенке желудочка. От места его высокой части, длина клапана была определена на уровне 29,8±1,09 мм, высота колеблется от 7,1±0,53 до 4,8±0,21 мм, а значение толщины от 0,48±0,02 до 1,57±0,06 мм. При этом максимальное значение толщины клапана определено вначале высокого основания створки, а минимальное у его свободного края (рис. 3). Следует отметить, что высокая часть клапана располагается чуть ниже уровня его узкой части, расположенной ближе к сосудистому конусу. Здесь ток крови устремляется по трабекулам стенки правого желудочка и расплавляет «капюшон» мышечного клапана, воздействуя уже снизу вверх и в направлении сосудистого конуса. Высокая часть клапана закрепляется таким образом, что препятствует его выворачиванию – во время систолы желудочка, а гладкая поверхность межжелудочковой перегородки и относительно тонкий свободный край мышечного клапана создают плотное соприкосновение структур.

Схожие особенности морфологии в правом желудочке отмечают у пекинской утки, где выраженная трабекуляция на дорсальной поверхности направлена справа налево, а на вентральной – слева направо, от перегородки к стенке желудочка [15].

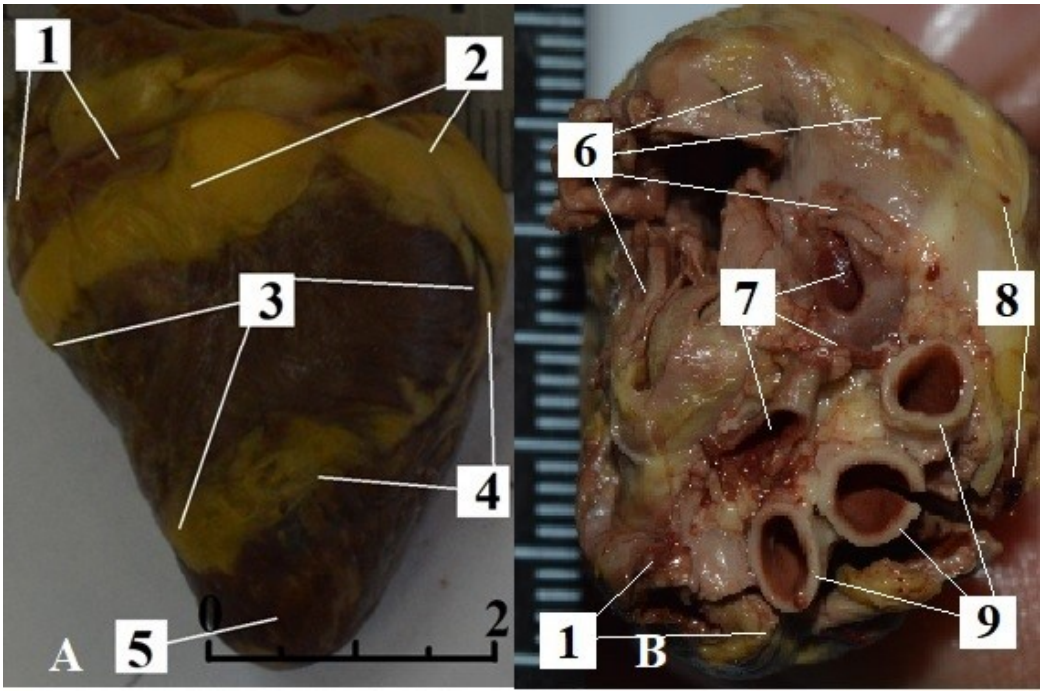


Рисунок 1 – Сердце обыкновенного гоголя, ♂ 2 года (А – кранио-вентральная поверхность; В – вид сверху): 1 – правое предсердие; 2 – эпикардиальный жир венечной борозды; 3 – границы правого желудочка; 4 – паракональная борозда; 5 – верхушка левого желудочка; 6 – левое предсердие; 7 – легочные артерии; 8 – краниальный край сердца; 9 – устья нисходящей, левой и правой плечеголовных артерий.

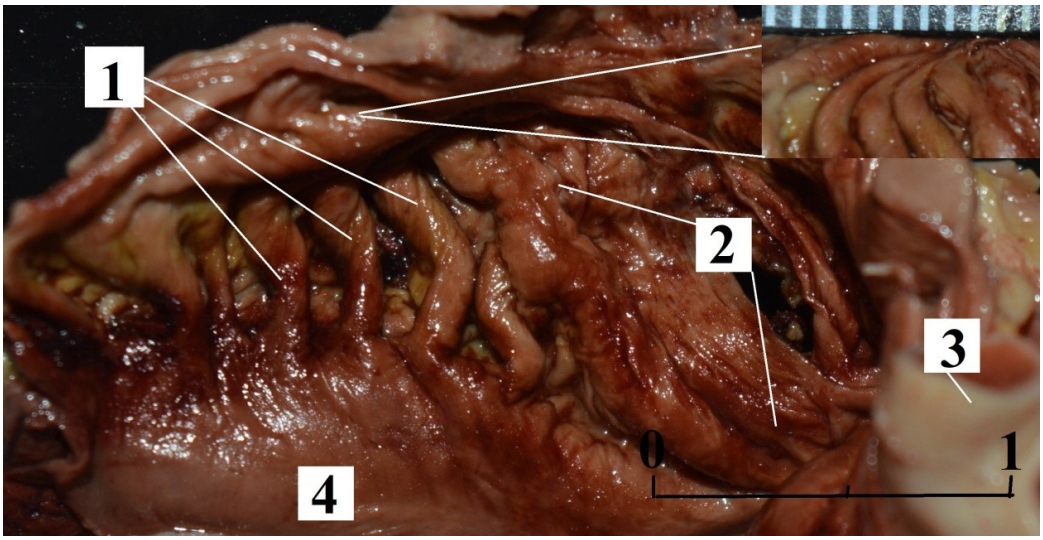


Рисунок 2 – Внутренняя структура правого предсердия обыкновенного гоголя: 1 – гребешковые мышцы первого порядка; 2 – синус правого предсердия; 3 – аорта; 4 – мышечный клапан.

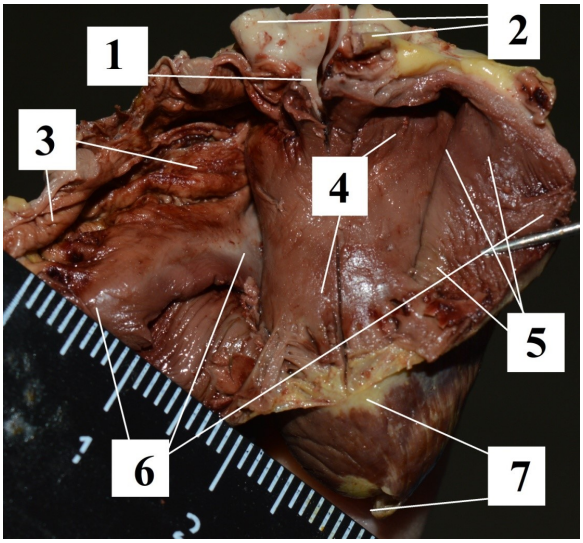


Рисунок 3 – Правая половина сердца самца гоголя обыкновенного: 1 – аорта; 2 – устья нисходящей, левой и правой плечеголовных артерий; 3 – правое предсердие; 4 – поверхность межжелудочковой перегородки; 5 – сосудистый конус и миокард правого желудочка; 6 – мышечный клапан; 7 – верхушка сердца.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

1. Сердце у самцов обыкновенного гоголя имеет сердечный индекс 83%, а по внешним границам правого желудочка отмечено наличие эпикардиального жира. Правый желудочек располагается выше уровня верхушки левого желудочка, имеет полулунную форму, которая на 70,7% окружает границы левого желудочка.

2. Свободные ушки правого предсердие образованы с участием восьми гребешковых мышц, которые в виде гребня начинаются от мышечного клапана, а дорсо-медиально ближе к синусу предсердия истончаются и объединяются в одной точке. Длина гребешковые мышцы колеблется на уровне 8,2±0,54 мм, толщина 0,83±0,02 мм.

3. Правый желудочек отделен от предсердия – мышечным клапаном, который имеет свои особенности закрепления, где его высокая часть идет от уровня межжелудочковой перегородки, формирует пристеночную часть атриовентрикулярного отверстия и на уровне сосудистого конуса сужается и закрепляется двумя частями. Со стороны правого желудочка трабекулы выражены только под мышечным клапаном, где перекладины направлены слева направо и вниз, от сужения мышечного клапана. Это способствует увлечению тока крови, слева направо и вниз, затем расправлению мышечного клапана, который плотно закрывает просвет к предсердию и поток крови устремляется к сосудистому конусу. Перекладины длиной 6,9±0,23 и шириной 0,83±0,03 мм, перемычками в пределах 1 мм.

FEATURES OF THE ANATOMY OF THE RIGHT HALF OF THE HEART IN GOGOL VULGARIS (BUCEPHALA CLANGULA)

[1]**Tarasevich V.N.** [*] – Candidate of Veterinary sciences, Associate Professor of the Department of special veterinary disciplines; [2]**Zhilin R.A.** – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine; [1]**Basatskaya Yu.S.** – 3rd year student of specialty 36.05.01 Veterinary Medicine; [3]**Tarasevich A.N.** – 3nd year student of the pedagogical institute

[1]Irkutsk State Agrarian University named after A.A. Yezhevsky;

[2]Primorsky State Agricultural Academy;

[3] Irkutsk State University

[*]tarasevich7239@mail.ru

ABSTRACT

The common goldeneye (Bucephala clangula) is a sea duck that belongs to the order Anseriformes and the family Anatidae.

Due to their lifestyle, they are able to hold their breath for up to 30 minutes and dive to a depth of 10 meters. Such a load on the duck's body contributes not only to the restructuring of morphological structures, but also to increased heart function. An analysis of the sources showed that the morphology of the heart in mammals and birds has been studied, but no work on the morphology of the right half of the heart in the common goldeneye was found, which was the purpose of our study. The material was hearts from male common goldeneye – 1.5-2 years old (n=3), caught in the bay of the Angara River. Thus, the cardiac index in the common goldeneye was determined to be 83%, and the presence of epicardial fat was noted on the side of the coronary and paroconal sulcus. The right ventricle is located above the level of the apex of the left ventricle, and 70.7% surrounds the borders of the left ventricle. The free appendages of the atrium are formed with the participation of eight pectineal muscles, which in the form of a ridge begin from the muscular valve, and dorsomedially closer to the atrial sinus, become thinner and unite at one point. The length of the pectineal muscle's ranges at 8.2±0.54 mm, thickness 0.83±0.02 mm. The right ventricle is separated from the atrium by a muscular valve, which has its own characteristics of fastening, where its high part extends from the level of the subsinus groove (interventricular septum), forms the parietal part of the atrioventricular orifice and at the level of the vascular cone narrows slightly and is fixed in two parts to the wall of the ventricle. On the side of the right ventricle, trabeculae are expressed only under the muscular valve, where the crossbars are directed from left to right and downward, from its narrowing. The crossbars are 6.9±0.23 long and 0.83±0.03 mm wide, with jumpers up to 1 mm.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Бианки В.В. Некоторые морфологические особенности гоголя (Bucephala clangula) как источник его адаптивных свойств / В.В. Бианки, Ф.Я. Дзержинский, Т.И. Гринцевичене // Зоологический журнал. – 2009. – Т.88. – № 8. – С. 968-974. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=12803
595&ysclid=lsbmceg5gf417570010

2. Бианки В.В. Питание гоголей Bucephala clangula в Кандалакшском заливе / В.В. Бианки, Н.С. Бойко, В.М. Хайтов // Русский орнитологический журнал. – 2003. – Т. 12. – № 225. – С. 615-629.

3. Stempniewicz L., Meissner W. Assessment of the zoobenthos biomass consumed yearly by diving ducks wintering in the Gulf of Gransk (southern Baltic Sea) // Ornis Svecica. 1999. V.9. № 3. P. 143-154.

4. Goodman D.C., Fisher H.J. Functional anatomy of the feeding apparatus in waterfowl (Aves: Anatidae). South Illinois Univ. Press. 1962. 193 p.

5. Suter W. Vergleichende Narungsцkologie von Uberwinternden Tauchenten (Bucephala, Aythya) und Blasshuhn (Fulica atra) am Untersee-Ende/Hochrhein (Bodensee) // Ornith, Beob. 1982. Bd 79. pp. 225-254.

6. Тарасевич В.Н. Особенности морфологии полулунных клапанов аорты и легочного ствола у сибирской косули / В.Н. Тарасевич, Р.А. Жилин, А.Н. Тарасевич // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2023. – № 1(66). – С. 218-224. – DOI 10.31677/2072-6724-2023-66-1-218-224. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=53804862

7. Хватов В.А. Морфология правой септомаргинальной трабекулы козы англонубийской породы / В.А. Хватов, М.В. Щипакин // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – №1. – С. 214-220. https://doi.org/ 10.17238/issn2072-2419.2021.1.214. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp? id=45633178

8. Хватов В.А. Архитектоника левой коронарной артерии бурого медведя / В.А. Хватов, Д.С. Былинская // Международный вестник ветеринарии. – 2023. – № 4. – С. 306-314. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.4.306.

9. Жилин Р.А. Миоэндокардиальные образования камер сердца водяного оленя (Hydropotes Inermis) в статистике / Р.А. Жилин, В.Н. Тарасевич // Международ-

ный вестник ветеринарии. – 2023. – № 2. – С. 261-269. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.2.261. Режим доступа: https:// elibrary.ru/item .asp?id=54145563
10. Зеленевский Н.В. Рентгенографическая локация дуги аорты и ее ветвей у кошки домашней и рыси евразийской / Н.В. Зеленевский, М.В. Щипакин, Д.С. Былинская [и др.] // Аграрная наука. – 2022. – № 4. – С. 21-25. – DOI 10.32634/0869-8155-2022-358-4-21-25.
11. Тарасевич В.Н. Некоторые особенности морфологии сердца носухи (Nasua nasua) / В.Н. Тарасевич, Н.И. Рядинская // Международный вестник ветеринарии. – 2023. – № 1. – С. 205-211. – DOI 10.52419/ issn2072-2419.2023.1.205. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=54145563
12. Тарасевич В.Н. Особенности морфологии эндокардиальных структур правого желудочка сердца сибирской косули / В.Н. Тарасевич // Международный вестник ветеринарии. – 2023. – № 2. – С. 292-300. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.2.292. Режим доступа: https:// elibrary.ru/item. asp?id=54145566
13. Tarasevich V.N. Morphological features of the venous bed of the heart of the Baikal seal. BIO Web of Conferences: Agriculture and Food Security: Technology, Innovation, Markets, Human Resources, Kazan, 28–29 maya 2021, Kazan: EDP Sciences; 2021. p. 00061. DOI 10.1051/bioconf/20213700061.
14. Цускман И.Г. Видовые особенности строения предсердий и желудочков сердца у курицы, утки и гуся / И.Г. Цускман, Л.В. Фоменко // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). 2014. № 4(33). С. 150-153. Режим доступа: https://elibrary.ru/ stpopd?ysclid=lsblzgs220218269638
15. Цускман И.Г. Особенности строения предсердий и желудочков сердца у утки пекинской / И.Г. Цускман, Л.В. Фоменко // Вестник КрасГАУ. – 2015. №4(103). – С. 134-137.
16. Малофеев Ю.М. Пинцет для работы с лимфатической системой / Ю.М. Малофеев, Л.В. Ткаченко, В.Н. Тарасевич [и др.] // Аграрный вестник Урала. – 2009. – № 6(60). – С. 55-56. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id =12885391
17. Малофеев Ю.М. Способ целостной фиксации комплекса органов у мелких животных с сохранением топографии и последующими комплексными морфологическими исследованиями / Ю.М. Малофеев, Л.В. Ткаченко, В.Н. Тарасевич [и др.] // Аграрный вестник Урала. – 2009. – 7(61). – С. 79-81. Режим доступа: https:// elibrary.ru/item.asp?id=18486571
18. Завалеева С.М. Морфология внутренних структур сердца косули / С.М. Завалеева, Е.Н. Чиркова // Биоразнообразие и биоресурсы Урала и сопредельных территорий: материалы III международной научной конференции (Оренбург, 25-27 мая 2006 г). – Оренбург: Принт-сервис. – 2006. – С. 225-226.
19. Васильев Д.В. Анатомия сердца рыси евразийской / Д.В. Васильев, Н.В. Зеленевский // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2015. – № 1. – С. 140-143. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id =23199841&ysclid=lsblhcku46886537239

REFERENCES

1.Bianki V.V., Dzerzhinsky F.Ya., Grintsevichene T.I. Some morphological features of goldeneye (Bucephala clangula) as a source of its adaptive properties. Zoological Journal. 2009;88(8):968-974. URL: https:// elibrary.ru/item.asp?id= 12803595&ysclid=lsbmceg5gf417570010 (In Russ.)
2.Bianki V.V., Boyko N.S., Khaitov V.M. Feeding of goldeneye Bucephala clangula in Kandalaksha Bay. Russian ornithological journal. 2003;12(225):615-629. (In Russ.)
3.Stempniewicz L., Meissner W. Assessment of the zoobenthos biomass consumed yearly by diving ducks wintering in the Gulf of Gransk (southern Baltic Sea) // Ornis Svecica. 1999. V.9. No 3. pp. 143-154.
4.Goodman D.C., Fisher H.J. Functional anatomy of the feeding apparatus in waterfowl (Aves: Anatidae). South Illinois Univ. Press. 1962. 193 p.
5.Suter W. Vergleichende Narungsцkologie von Uberwinternden Tauchenten (Bucephala, Aythya) und Blasshuhn (Fulica atra) am Untersee-Ende/Hochrhein

(Bodensee) // Ornith, Beob. 1982. Bd 79. pp. 225-254.
6.Tarasevich V.N., Zhilin R.A., Tarasevich A.N. Features of the morphology of the semilunar valves of the aorta and pulmonary trunk in the Siberian roe deer. Bulletin of NSAU (Novosibirsk State Agrarian University). 2023;1(66):218-224. DOI 10.31677/2072-6724-2023-66-1-218-224. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id= 53804 862 (In Russ.)
7.Khvatov V.A., Shchipakin M.V. Morphology of the right septomarginal trabecula of an Anglo-Nubian goat. International Bulletin of Veterinary Medicine. 2021;1:214-220. https://doi.org/10.17238/issn2072-2419.2021.1.214. URL: https: //elibrary.ru/item.asp?id=45633178 (In Russ.)
8.Khvatov V.A., Bylinskaya D.S. Architectonics of the left coronary artery of a brown bear. International Bulletin of Veterinary Medicine. 2023;4:306-314. DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.4.306. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=59759619 (In Russ.)
9.Zhilin R.A., Tarasevich V.N. Myoendocardial formations of the heart chambers of water deer (Hydropotes inermis) in statistics. International Bulletin of Veterinary Medicine. 2023;2:261-269. DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.2.261. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=54145563 (In Russ.)
10.Zelenevsky N.V., Shchipakin M.V., Bylinskaya D.S. et al X-ray location of the aortic arch and its branches in the domestic cat and Eurasian lynx. Agrarian science. 2022;4:21-25. DOI 10.32634/0869-8155-2022-358-4-21-25. URL: https://elibrary. ru/item.asp?id=48491929&ysclid=lsbm68dmtz899535614 (In Russ.)
11.Tarasevich V.N., Ryadinskaya N.I. Some features of the morphology of the Nasua nasua heart. International Bulletin of Veterinary Medicine. 2023;1:205-211. DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.1.205. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id= 54145563 (In Russ.)
12.Tarasevich V.N. Features of the morphology of the endocardial structures of the right ventricle of the heart of the Siberian roe deer. International Bulletin of Veterinary Medicine. 2023;2: 292-300. DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.2.292. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=54145566 (In Russ.)
13.Tarasevich V.N. Morphological features of the venous bed of the heart of the Baikal seal. BIO Web of Conferences: Agriculture and Food Security: Technology, Innovation, Markets, Human Resources, Kazan, 28–29 maya 2021, Kazan: EDP Sciences; 2021. p. 00061. DOI 10.1051/bioconf/20213700061. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=47137465
14.Tsuskman I.G., Fomenko L.V. Specific features of the structure of the atria and ventricles of the heart in chicken, duck and goose. Bulletin of NSAU (Novosibirsk State Agrarian University). 2014;4(33):150-153. URL: https://elibrary.ru /stpopd?ysclid=lsblzgs220218269638 (In Russ.)
15.Tsuskman I.G., Fomenko L.V. Features of the structure of the atria and ventricles of the heart in the Peking duck. Bulletin of KrasGAU. 2015;4(103):134-137. URL: https://elibrary.ru/tycvbr?ysclid=lsblx0z59f109276744 (In Russ.)
16.MalofeevYu.M., Tkachenko L.V., Tarasevich V.N. et al. Tweezers for working with the lymphatic system. Agrarian Bulletin of the Urals. 2009;6(60):55-56. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=12885391 (In Russ.)
17.MalofeevYu.M., Tkachenko L.V., Tarasevich V.N. et al. A method of holistic fixation of a complex of organs in small animals with preservation of topography and subsequent complex morphological studies. Agrarian Bulletin of the Urals. 2009;7 (61):79-81. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=18486571 (In Russ.)
18.Zavaleeva S.M., Chirkova E.H. Morphology of the internal structures of the roe deer heart. Biodiversity and bioresources of the Urals and adjacent territories: materials of the III international scientific conference (Orenburg, May 25-27, 2006). – Orenburg: Print service. 2006. pp. 225-226. (In Russ.)
19.Vasiliev D.V., Zelenevsky N.V. Anatomy of the heart of the Eurasian lynx. Issues of legal regulation in veterinary medicine. 2015;1:140-143.

УДК: 619
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.259

ОСОБЕННОСТИ АДАПТАЦИИ КОЖНОГО ПОКРОВА ИНДЕЕК В ПРОМЫШЛЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Сидорова К.А. – д-р биол. наук, зав. кафедрой анатомии и физиологии (ORCID 0000-0001-6912-7454); **Краснолобова Е.П.** – канд. ветеринар. наук, доц. кафедры анатомии и физиологии (ORCID 0000-0002-2260-5639); **Веремеева С.А.** – канд. ветеринар. наук, доц. кафедры анатомии и физиологии (ORCID 0000-0002-3656-6837); **Козлова С.В.** – канд. биол. наук, доц. каф. незаразных болезней сельскохозяйственных животных (ORCID 0000-0002-1431-9720); **Черменина Н.А.** – канд. биол. наук, доц. каф. анатомии и физиологии (ORCID 0000-0001-9509-2013).

ФГБОУ ВО «Государственный аграрный университет Северного Зауралья»

*sidorova.clavdija@yandex.ru

Ключевые слова: адаптация, кожный покров, индейки, интенсивные технологии, кросс, *Hybrid Converter novo*.

Key words: adaptation, skin covering, turkeys, intensive technologies, cross, Hybrid Converter novo.

Поступила: 26.02.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Кожа, посредством своих структурных особенностей, выполняя свои функции, участвует в формировании и становлении адаптационных процессов организма птицы в ответ на воздействия факторов, как экзогенного, так и эндогенного происхождения. Целью данной работы явилось изучение регионарных и возрастных особенностей гистоструктуры кожи индеек кросса Хайбрид Конвертер НОВО, выращиваемых в условиях птицепредприятия Тюменской области. Макроскопические и микроскопические исследования кожи индюшат проводились в лаборатории кафедры анатомии и физиологии. Установлено, что кожа индейки имеет 3 слоя: эпидермис, дерму и подкожный слой. Эпидермис состоит из рогового и герминативного слоев, дерма из поверхностного и глубокого слоев, здесь залегают перьевые фолликулы. Роговой слой эпидермиса представлен корнеоцитами, а герминативный слой – кератиноцитами. Толщина кожи спины меньше, чем живота. При этом толщина рогового слоя на спине меньше, чем герминативного до 105 суточного возраста. На животе толщина рогового и герминативного слоев практически одинакова во всех возрастах. Роговой слой более утолщен на животе, по сравнению с кожей спины. Наибольшей толщины кожа достигает на животе и постепенно истончаясь к спине. Эпидермис тонкий. Дерма характеризуется плотным переплетением коллагеновых волокон. Гладкомышечные волокна в коже и волосяных фолликулах развиваются к 42 суткам, и повышается по объему к 105 суточному возрасту. Урежение перьевого покрова в области грудины и живота, вызванное механическим воздействием при напольном содержании птицы, способствует увеличению абсолютной толщины эпидермиса в данной области (примерно в 3,5 раза больше, чем в области спины), что связано с его участием в защите кожи от механических повреждений.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Отличительными особенностями организма сельскохозяйственной птицы являются высокие темпы воспроизводства, ускоренный рост, интенсивность продуктивности. Птица обладает множеством морфофизиологических особенностей, благодаря которым раскрывается генетически обусловленный потенциал вида, породы, кросса. В частности, для кожи птицы характерна специфичность в морфологическом и физиологическом аспектах. Кожа, посредством своих структурных особенностей, выполняя определенные функции, участвует в формировании и становлении адаптационных процессов организма в ответ на воздействия факторов, как экзогенного, так и эндогенного происхождения [6, 7].

Кожный покров птиц представлен собственно кожей и ее производными, такими как перья, копчиковая железа, гребень, сережки, мочки, роговые стенки надклювья и подклювья, когти, роговые чешуйки в области плюсны и пальцев. В отличие от млекопитающих, птицы имеют тонкую, сухую кожу (у кур толщина 0,3-3 мм), в толще которой отсутствую потовые и сальные железы. У кур кожа толще на спине и тоньше в области живота. У уток и гусей, наоборот, кожа толще на животе. Кожа обладает значительной подвижностью благодаря складчатости, которая формируется за счет хорошо развитой жировой клетчатки.

В структуре кожи различают эпидермис, дерму и подкожную клетчатку. Эпидермис у птиц очень тонкий, состоит из росткового слоя, который представлен размножающимися клетками, и поверхностного рогового. Дерма представляет собой очень тонкий слой, состоящий из горизонтально расположенных коллагеновых волокон и переплетающихся между собой. В дерме участков тела, покрытых перьями, имеются сосочки в виде микроскопических выростов с кровеносными капиллярами и нервными окончаниями. Подкожная клетчатка рыхлая, в подкожном слое уток и гусей находится значительное количество жировой ткани. На границе между дермой и подкожной клетчаткой располагаются эластические волокна. С помощью сухожилий, состоящих из коллагеновых фибрилл, одним концом к ним, прикрепляются гладкие мышцы контурных перьев. Вокруг перьевых мешочков и в коже ног располагаются особые осязательные клетки [1, 3, 5, 8, 10, 12].

Особенностью кожи птиц является наличие в структуре парных копчиковых (надхвостовые) желез. У большинства видов птиц подкожные копчиковые железы расположены на спинной стороне у основания хвоста. Данные железы отсутствуют у некоторых бескилевых птиц (страусы, дрофы, некоторые попугаи и голуби, козодои, цапли), у них функция копчиковых желез замещена действием порошкового пуха. Копчиковые железы относятся к железам голокринного типа с количеством выводных протоков от 1 до 5. Максимально железы развиты у водоплавающих птиц и у скопы. Секрет копчиковых желез является важным депо витамина D [2].

Рядом исследователей были установлены видовые особенности структуры кожи, а также и адаптационные перестройки кожных структур на различных участках тела, зависящие от возраста птицы и периода ее жизни.

Так Picasso M. B. J., Mario R., Barbeito C. G., изучая структуру кожи большого нанду (Rhea americana), установили, что у эпидермиса и дермы с возрастом увеличивается толщина, роговой слой эпидермиса толще в передней части тела, при этом эпидермис тоньше дермы. Дерма содержит незначительное количество эластичных волокон и тонкий васкуляризированный поверхностный слой, коллагеновые волокна располагаются в трех направлениях [11].

Авторы Weir K. A., Lunam C. A. утверждают, что у птицы эму, в базальном слое эпидермиса, сконцентрированы липидные сферы. Плотность коллагена в разных слоях дермы одинакова, но диаметр пучка коллагенового волокна меньше в поверхностном слое. Жировая ткань максималь-

на развита, что обеспечивает поддержку крупных перьев и защиту от воздействия низких температур окружающей среды. Также исследователями было замечено, что у самцов слои эпидермиса толще, чем у самок на 0,02 мкм, при этом у самок коллаген более плотный, чем у самцов [13].

Yadav G., Majumdar G., Singh N. S. обнаружили, что у перелетных овсянок в области груди тонкий участок кожи и прикрепляется к подлежащей мышечной ткани. Под кожей обширная сеть кровеносных сосудов, благодаря которой доставляются стимуляторы сезонных изменений во внешнем облике овсянок. Также установлено наличие кожно-мышечных карманов. Они свободно крепятся к коже и в своем биохимическом составе имеют нуклеиновые кислоты. Установленные особенности гистоструктуры кожи овсянок расширяют представления об особенностях строения кожного покрова мигрирующих видов птиц [14].

На сегодняшний день, результаты исследований кожи свидетельствуют о наличии характерных морфофизиологических особенностях кожных покровов птиц. Однако регионарные и возрастные особенности гистологии кожи многих видов птиц не изучены. В этой связи целью данной работы явилось изучение регионарных и возрастных особенностей гистоструктуры кожи индеек кросса Хайбрид Конвертер НОВО, выращиваемых в условиях птицепредприятия Тюменской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проведены в 2023-2024 годах на кафедре анатомии и физиологии ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья в соответствии с тематикой научных исследований «Изучение механизмов адаптации и способов повышения продуктивности индеек в условиях Северного Зауралья» (Рег. № И124011600055-7). Материалом послужили индейки кросса Хайбрид Конвертер НОВО – это тяжелая порода белой широкогрудой индейки, выращиваемая ООО «Абсолют-Агро», входящей в состав группы компаний «РУСКОМ».

Динамику живой массы индюшат выявляли путем индивидуального взвешивания. За сохранностью поголовья и общим состоянием организма осуществлялось ежедневное наблюдение. Убой подопытной птицы и отбор органов индюшат проводили на 1, 21, 42, 82, 105 сутки в соответствии ГОСТ 18292-85 «Птица сельскохозяйственная для убоя».

Гистологические исследования осуществляли по общепринятым морфологическим и гистологическим методикам. Проводилась морфометрия органов, оценка массы, цвета, состояние на разрезе.

Для гистологических исследований отбирали материал в 10% забуференный гистологический формалин, далее проводили стандартную гистологическую проводку [4]. Полученные блоки нарезали на ротационном микротоме *«Ротмик-2М»* толщиной 5 мкм. Проводили окрашивание гематоксилином и эозином, по Ван Гизону и по Массону по общепринятым методикам [9]. 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. Замеры основных гистоструктур кожи осуществлялся с помощью программы *«HAYEAR».* Полученные данные подвергали математической и биометрической обработке.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Характерной особенностью кожи птиц является ее тонкость, подвижность, складчатость, объемность и рыхлость подкожной клетчатки. Кожный покров тела птицы представляет собой многофункциональную систему. Специфичность иннервации кожи и ее производных определяет сенсорную способность кожного покрова.

Все проявления филогенетической изменчивости кожного покрова связаны с внешними условиями. Морфологические характеристики кожного покрова тонко

адаптированы к различным особенностям окружающей среды.

Морфометрические показатели и гистологическая структура кожи спины и живота индеек представлены в таблице 1 и на рисунках 1-6.

В ходе микроскопических исследований установлено, что кожа индейки имеет 3 слоя: эпидермис, дерму и подкожный слой. Эпидермис состоит из рогового и герминативного слоев, дерма из поверхностного и глубокого слоев, здесь залегают перьевые фолликулы. Роговой слой эпидермиса представлен корнеоцитами, а герминативный слой – кератиноцитами.

В препаратах кожи живота, при окраске по Ван-Гизону наблюдается у 1-суточных индеек четко выраженные коллагеновые волокна вокруг перьевого фолликула. У 21- и 42-суточных – четко выраженные коллагеновые волокна вокруг перьевого фолликула и глубоком слое дермы. У 82- и 105-суточных – коллагеновые волокна содержатся во всех слоях кожи.

В гистопрепаратах кожи живота, при окраске по Массону замечено, что у 1-суточных индеек коллагеновые волокна и гладкомышечная ткань располагаются вокруг перьевого фолликула и коллаген в дерме. У 21- и 42-суточных – коллаген в дерме, коллагеновые волокна и гладкомышечная ткань располагается вокруг перьевого фолликула и в глубоком слое дермы, а у 82 – и 105-суточных – гладкомышечные волокна вокруг перьевого фолликула и в глубоком слое дермы, и коллагеновые, ретикулиновые волокна - во всех слоях кожи.

Микроскопией препаратов кожи спины, окрашенных по Ван-Гизону, установлена четкая выраженность коллагенового волокна и гладкомышечной ткани в дерме кожи и вокруг волосяного фолликула.

При гистологическом исследовании препаратов кожи спины окрашенных по Массону замечено, что у 1-суточных индеек в большом количестве коллаген, коллагеновые волокна и гладкомышечная ткань. У 21- и 42-суточных – в большем количестве преобладает коллаген. У 82- и 105-суточных – коллагеновые волокна и гладкомышечная ткань в дерме и вокруг перьевого фолликула.

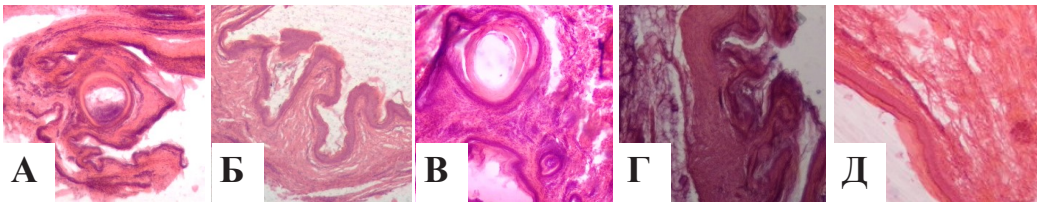


Рисунок 1 – Гистологическая картина кожи живота индейки. А – 1 сут., Б – 21 сут., В – 42 сут., Г – 82 сут., Д – 105 сут. Окраска гематоксилин-эозином, ув.×200.

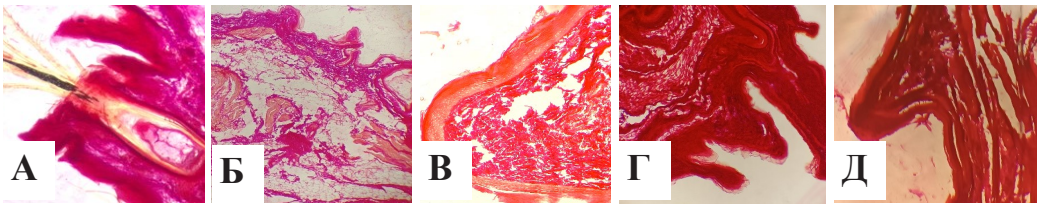


Рисунок 2 – Гистологическая картина кожи живота индейки. А – 1 сут., Б – 21 сут., В – 42 сут., Г – 82 сут., Д – 105 сут. Окраска по Ван-Гизону, ув.×200.

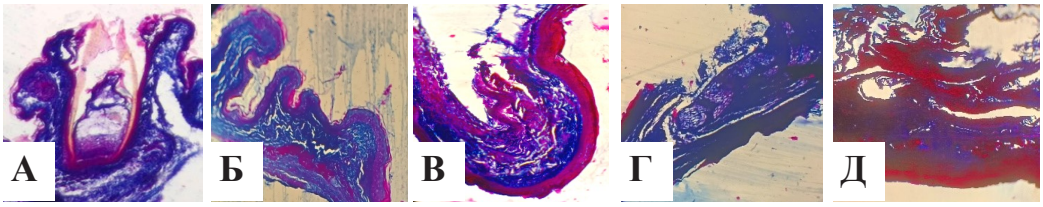


Рисунок 3 – Гистологическая картина кожи живота индейки. А – 1 сут., Б – 21 сут., В – 42 сут., Г – 82 сут., Д – 105 сут. Окраска по Массону, ув.×200.

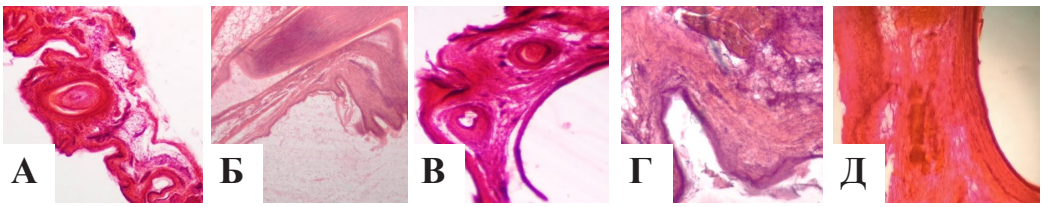


Рисунок 4 – Гистологическая картина кожи спины индейки. А – 1 сут., Б – 21 сут., В – 42 сут., Г – 82 сут., Д – 105 сут. Окраска гематоксилин-эозином, ув.×200.

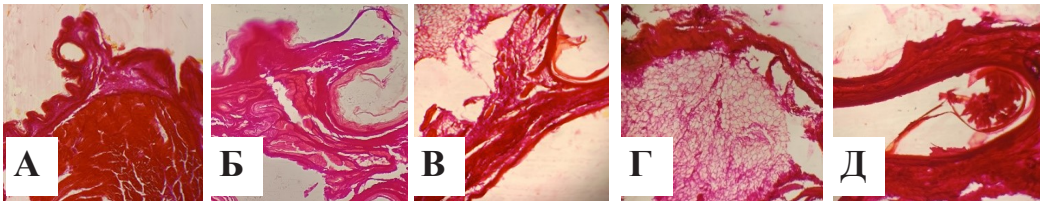


Рисунок 5 – Гистологическая картина кожи спины индейки. А – 1 сут., Б – 21 сут., В – 42 сут., Г – 82 сут., Д – 105 сут. Окраска по Ван-Гизон, ув.×200.

Таблица 1 – Морфометрические показатели гистологических структур кожи, мкм

Показатели	1 сут (n=10)	21 сут (n=5)	42 сут (n=6)	82 сут (n=6)	105 сут (n=6)
Эпидермис кожи спины					
Толщина рогового слоя	4.31±1,54	8,805±1,46	2,45±0,49	16,03±5,85	14,29±6,0
Толщина германи-тивного слоя	14,925±5,64	4,585±0,52 6	6,925±0,85	12,02±1,96	12,475±2,78
Эпидермис кожи живота					
Толщина рогового слоя	4,66±0,39	7,915±1,06	8,01±2,27	8,82±2,0	20,29±11,5
Толщина германи-тивного слоя	5,135±1,06	3,045±0,72 4	18,845±4,1 5	9,38±1,48	30,195±12,6

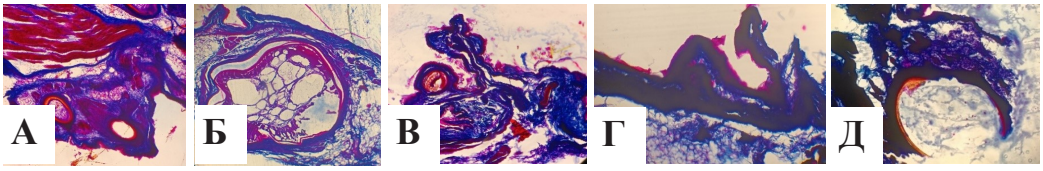


Рисунок 6 – Гистологическая картина кожи спины индейки. А – 1 сут., Б – 21 сут., В – 42 сут., Г – 82 сут., Д – 105 сут. Окраска по Массону, ув.×200.

Из таблицы 1 видно, что толщина кожи спины меньше, чем живота. При этом толщина рогового слоя на спине меньше, чем герминативного до 105 суточного возраста. На животе толщина рогового и герминативного слоев практически одинакова во всех возрастах. Отмечается утолщение рогового слоя на животе по сравнению с кожей спины, что является следствием механических повреждений.

В результате изучения адаптационных особенностей кожи было установлено, кожа наибольшей толщины достигает на животе и постепенно истончается к спине. Эпидермис тонкий. Дерма характеризуется плотным переплетением коллагеновых волокон. Гладкомышечные волокна в коже и волосяных фолликулах развиваются к 42 суткам и повышается по объему к 105 суточному возрасту.

При макроскопическом осмотре было отмечено снижение перьевого покрова в области грудины и живота, вызванное механическими повреждениями, происходящими в результате напольного содержания птицы. С изрежением перьевого покрова эпидермис в большей степени принимает участие в защите кожи от механических повреждений и его абсолютная толщина сильно возрастает (примерно в 3,5 раза больше, чем на спине).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате изучения адаптационных особенностей кожи было установлено, что наибольшей толщины кожа достигает в области живота, постепенно утончаясь к спине. Эпидермис тонкий, дерма характеризуется плотным переплетением коллагеновых волокон, гладкомышечные волокна в коже и волосяных фолликулах активно начинают развиваться к 42 суткам, увеличиваясь в объеме к 105 суточному возрасту. Урежение перьевого покрова в области грудины и живота, вызванное механическим воздействием при напольном содержании птицы, способствует увеличению абсолютной толщины эпидермиса в данной области (примерно в 3,5 раза больше, чем в области спины), что связано с его участием в защите кожи от механических повреждений.

FEATURES OF ADAPTATION OF THE ORGANISM OF TURKEYS IN THE CONDITIONS OF THE POULTRY FACTORY

Sidorova K.A. – Doctor of Biology n, prof., head department anatomy and physiology (ORCID 0000-0001-6912-7454), **Veremeeva S.A.** – PhD. n, assoc. department of anatomy and physiology (ORCID 0000-0002-3656-6837), **Krasnolobova E.P.** – PhD. n, assoc. department of anatomy and physiology (ORCID 0000-0002-2260-5639), **Kozlova S.V.** – PhD. in Biology, assoc. department of non-communicable diseases of farm animals (ORCID 0000-0002-1431-9720), **Cheremenina N.A.** – PhD. in Biology, assoc. department of anatomy and physiology (ORCID 0000-0001-9509-2013),

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Northern Trans-Ural State Agricaltural University

*sidorova.clavdija@yandex.ru

ABSRTACT

The skin, through its structural features, while performing its functions, participates in the formation and establishment of adaptive processes in the bird's body in response to the influence of factors of both exogenous and endogenous origin. The purpose of this work was to study the regional and age-related features of the histostructure of the skin of Hybrid Converter NOVO cross tur-

keys raised in the conditions of a poultry farm in the Tyumen region. Macroscopic and microscopic studies of the skin of turkey poults were carried out in the laboratory of the Department of Anatomy and Physiology. It has been established that turkey skin has 3 layers: epidermis, dermis and subcutaneous layer. The epidermis consists of the horny and germinal layers, the dermis of the superficial and deep layers, where feather follicles lie. The stratum corneum of the epidermis is represented by corneocytes, and the germinal layer is represented by keratinocytes. The thickness of the skin of the back is less than that of the abdomen. At the same time, the thickness of the stratum corneum on the back is less than that of the germinal layer up to 105 days of age. On the abdomen, the thickness of the horny and germinal layers is almost the same at all ages. There is a thickening of the stratum corneum on the abdomen compared to the skin of the back. The skin is thickest on the abdomen and gradually thins towards the back. The epidermis is thin. The dermis is characterized by a dense interweaving of collagen fibers. Smooth muscle fibers in the skin and hair follicles develop by 42 days, and increase in volume by 105 days of age. The thinning of the feather cover in the sternum and belly area, caused by mechanical stress when poultry are kept on the floor, contributes to an increase in the absolute thickness of the epidermis in this area (about 3.5 times greater than in the back area), which is associated with its participation in protecting the skin from mechanical impacts damage.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Антипова, Л. В. Перспективы использования кожи индейки в технологии мясных продуктов / Л. В. Антипова, Е. В. Власова // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. – 2017. – Т. 79, № 1(71). – С. 188 -192. – DOI 10.20914/2310-1202-2017-1-188-192. – EDN YTNIXH.

2.Выставной, А. Л. Влияние экстирпации копчиковой железы на микроструктуру пера мускусных уток и кур / А. Л. Выставной // Материалы XXIII съезда Физиологического общества им. И. П. Павлова с международным участием, Воронеж, 18–22 сентября 2017 года. – Воронеж: Издательство Истоки, 2017. – С. 2495-2497. – EDN MNGKHH.

3.Зубаирова, Л. А. Целесообразность использования кожи птицы в технологии мясных продуктов / Л. А. Зубаирова, Р. Р. Сайфуллин, Д. И. Шамигулова // Наука молодых – инновационному развитию АПК : материалы XI Национальной научно-практической конференции молодых ученых, Уфа, 04 декабря 2018 года / Башкирский государственный аграрный университет. Том Часть II. – Уфа: Башкирский государственный аграрный университет, 2018. – С. 131-134. – EDN ZQDOQH.

4.Корьяк, В. А. Основы гистологической техники : учебное пособие / В. А. Корьяк, Л. А. Николаева. — Иркутск : ИГМУ, 2020. — 85 с.

5.Метрическая координация между размерными характеристиками птиц и микроструктурными признаками их пуховых перьев на примере некоторых видов Утиных / О. Л. Силаева, О. Ф. Чернова, А. Н. Вараксин, С. А. Букреев // Материалы по флоре и фауне Республики Башкортостан. – 2022. – № 35. – С. 34-49. – EDN BHYUFX.

6.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.

7.Особенности адаптационных характеристик индеек в условиях Северного Зауралья / К. А. Сидорова, Е. П. Краснолобова, С. В. Козлова [и др.]. – Тюмень : Государственный аграрный университет Северного Зауралья, 2023. – 177 с. – ISBN 978-5-98346-124-6. – EDN EVRPPS.

8.Сивелькаева, Т. Б. Кожа птицы -резерв сырья для изготовления мясопродуктов / Т. Б. Сивелькаева // Мясной ряд. – 2016. – № 1(63). – С. 40-43. – EDN WKAFNJ.

9.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. – Текст: непосредственный.
10. Чернова, О. Ф. Кожные дериваты в онто- и филогенезе позвоночных / О. Ф. Чернова // Русский орнитологический журнал. – 2020. – Т. 29, № 1986. – С. 4846 -4862. – EDN JXDRAQ.
11. Picasso M. B. J., Mario R., Barbeito C. G. The skin structure of greater rhea (R heidae, P alaeognathae) //Acta Zoologica. – 2016. – Т. 97. – №. 3. – С. 302-309.
12. Utilization of poultry skin as one of the components for emulsion-based products / G. Tumenova, Z. Suleimenova, G. Zhakupova [et al.] // Journal of Engineering and Applied Sciences. – 2016. – Vol. 11, No. 6. – P. 1370-1373. – EDN XNTDCJ.
13. Weir K. A., Lunam C. A. A histological study of emu (Dromaius novaehollandiae) skin //Journal of Zoology. – 2004. – Т. 264. – №. 3. – С. 259-266.
14. Yadav G., Majumdar G., Singh N. S. Histological study of the thin skin of a migratory song bird //ActaZoologica. – 2021. – Т. 102. – №. 4. – С. 412-419.

REFERENCES

1. Antipova, L. V. Prospects for the use of turkey skin in the technology of meat products / L. V. Antipova, E. V. Vlasova // Bulletin of the Voronezh State University of Engineering Technologies. – 2017. – T. 79, No. 1 (71). – pp. 188-192. – DOI 10.20914/2310-1202-2017-1-188-192. – EDN YTNIXH.
2. Vystavnoy, A. L. The influence of extirpation of the coccygeal gland on the microstructure of the feathers of musky ducks and chickens / A. L. Vystavnoy // Materials of the XXIII Congress of the Physiological Society named after. I. P. Pavlova with international participation, Voronezh, September 18–22, 2017. – Voronezh: Istoki Publishing House, 2017. – P. 2495-2497. – EDN MNGKHH.
3. Zubairova, L. A. The feasibility of using poultry skin in the technology of meat products / L. A. Zubairova, R. R. Sayfullin, D. I. Shamigulova // Science of the young - innovative development of the agro-industrial complex: materials of the XI National Scientific and Practical Conference young scientists, Ufa, December 04, 2018 / Bashkir State Agrarian University. Volume Part II. – Ufa: Bashkir State Agrarian University, 2018. – pp. 131-134. – EDN ZQDOQH.
4. Koryak, V. A. Fundamentals of histological technology: textbook / V. A. Koryak, L. A. Nikolaeva. — Irkutsk: IGMU, 2020. — 85 p.
5. Metric coordination between the dimensional characteristics of birds and the microstructural characteristics of their down feathers using the example of some species of Utins / O. L. Silaeva, O. F. Chernova, A. N. Varaksin, S. A. Bukreev // Materials on flora and fauna Republic of Bashkortostan. – 2022. – No. 35. – P. 34-49. – EDN BHYUFX.
6. Features of adaptation of the turkey body in a poultry farm / S. V. Kozlova, S. A. Veremeeva, E. P. Krasnolobova [etc.] // International Veterinary Bulletin. – 2023. – No. 4. – P. 276-284. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.4.276. – EDN USHSCB.
7. Features of adaptation characteristics of turkeys in the conditions of the Northern Trans-Urals / K. A. Sidorova, E. P. Krasnolobova, S. V. Kozlova [etc.]. – Tyumen: State Agrarian University of the Northern Trans-Urals, 2023. – 177 p. – ISBN 978-5-98346-124-6. – EDN EVRPPS.
8. Sivelkaeva, T. B. Poultry skin is a reserve of raw materials for the production of meat products / T. B. Sivelkaeva // Meat row. – 2016. – No. 1(63). – pp. 40-43. – EDN WKAFNJ.
9. Khonin, G.A. Morphological research methods in veterinary medicine textbook. / G.A. Khonin, S.A. Barashkova, V.V. Semchenko - Omsk: Omsk Regional Printing House. – 2004. – 198 p. – Text: direct.
10. Chernova, O. F. Skin derivatives in the onto- and phylogenesis of vertebrates / O. F. Chernova // Russian Ornithological Journal. – 2020. – T. 29, No. 1986. – P. 4846-4862. – EDN JXDRAQ.
11. Picasso M. B. J., Mario R., Barbeito C. G. The skin structure of greater rhea (R heidae, P alaeognathae) //Acta Zoologica. –

2016. – Т. 97. – №. 3. – С. 302-309.

12.Utilization of poultry skin as one of the components for emulsion-based products / G. Tumenova, Z. Suleimenova, G. Zhakupova [et al.] // Journal of Engineering and Applied Sciences. – 2016. – Vol. 11, No. 6. – P. 1370-1373. – EDN XNTDCJ.

13.Weir K. A., Lunam C. A. A histological study of emu (Dromaius novaehollandiae) skin //Journal of Zoology. – 2004. – Т. 264. – №. 3. – С. 259-266.

14.Yadav G., Majumdar G., Singh N. S. Histological study of the thin skin of a migratory song bird //ActaZoologica. – 2021. – Т. 102. – №. 4. – С. 412-419.

УДК: 636.1:617.3
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.268

ТЕНДИНОПАТИИ ПОВЕРХНОСТНОГО СГИБАТЕЛЯ ПАЛЬЦА У ЛОШАДЕЙ: МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СРЕДНЕЙ ТРЕТИ ПЯСТИ

Борхунова, Е.Н. [1] – д-р биол. наук, доц., зав. каф. анатомии и гистологии животных, (ORCID 0000-0003-2355-8616); **Жукова, М.В.**[2*] – соискатель каф. анатомии и гистологии животных, глав. ветврач клиники Максима Вет (ORCID 0009-0009-5894-8279); **Гасангусейнова Э.К.**[1] – канд. биол. наук, доц. каф. анатомии и гистологии животных (ORCID 0000-0002-2868-1261).

[1] ФГБОУ ВО МГАВмиБ – МВА им. К.И. Скрябина
[2] Клиника Максима Вет, Московская область, Горки

*black717@mail.ru

Ключевые слова: *лошадь, сухожилие, поверхностный сгибатель пальца, тендинопатия, морфология.*
Key words: *horse, tendon, superficial flexor of the finger, tendinopathy, morphology.*

Поступила: 27.02.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Особенностью тренировочного процесса у верховых спортивных лошадей являются повторяющиеся неравномерные максимальные весовые нагрузки на конечности и, в частности, на их сухожильно-связочный аппарат. В исследовании использованы сухожилия поверхностного сгибателя пальца грудных и тазовых конечностей спортивных лошадей, павших от причин, не связанных с травмами сухожилий. У всех животных прижизненно была диагностирована тендинопатия. Отбирали изолированные кисти грудной конечности и стопы тазовой конечности, а также образцы сухожилия поверхностного сгибателя пальца 15-ти спортивных лошадей в возрасте от 6 до 15 лет. Гистологические исследования проводили по общепринятой методике: материал фиксировали в 10%-м растворе формалина, заливали в парафин, готовили срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином для выявления общей морфологической картины, по Ван-Гизон для оценки состояния пучков коллагеновых волокон и альциановым синим для выявления гликозаминогликанов. Микропрепараты изучали с помощью микроскопов Jenamed-2 и MicroScreen. В результате проведенных исследований получены оригинальные данные. Признаки хронического воспаления, многочисленные очаги деструкции ткани в сочетании с умеренными реактивными изменениями в ткани свидетельствуют о длительном, многолетнем течении патологического процесса. Поскольку сухожилие является умеренно васкуляризованной тканью, постольку недостаточная перфузия не позволяет поддерживать окислительно-восстановительные процессы на необходимом уровне. Поэтому в условиях, когда в хорошо васкуляризованных скелетных мышцах метаболизм восстанавливается, в сухожилиях этот процесс еще не завершен. Условия гипоксии сами по себе создают фон для развития соединительной ткани и склерозирования. Не исключено, что именно таким образом постепенно нарастают признаки склероза в эпитенонии и перитенонии, а также в стенках кровеносных сосудов, которые были выявлены в наших исследованиях.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Тендинопатии – патологическое состояние сухожилия лошади, развивающееся в результате накопления эндогенных травм, которые возникают обычно на фоне спортивных нагрузок и перегрузок. Сухожилия спортивных лошадей с трудом восстанавливаются, что связано с особенностями и структуры, а также значительной массой лошади и наличием единственного опорного луча – третьего пальца. Это обусловливает невозможность перераспределения нагрузки при травмах [1,2,3].

Особенностью тренировочного процесса у верховых спортивных лошадей являются повторяющиеся неравномерные максимальные весовые нагрузки на конечности и, в частности, на их сухожильно-связочный аппарат. Например, при выполнении программы выездки лошадь выдерживает длительно повторяющиеся циклы на искусственных аллюрах (пассаж и пиаффе), в конкуре и троеборье она производит высотно-широтные прыжки через препятствия при основной работе на галопе. При этом компенсация биомеханических нагрузок и перегрузок за счет структурных особенностей опорно-двигательного аппарата во многом определяется особенностями экстерьера лошади, а разнообразие нагрузок создает условия для формирования множественных мелких очагов деструкции, которые никак не проявляются клинически [4,5]. При ортопедической диспансеризации нередко можно выявить такие патологические очаги, определив доклиническую форму тендинопатии. Однако своевременное лечение удается начать не всегда, так как в конном спорте предпочтение часто отдают не терапии, из-за которой приходится откладывать старт или тренировки, а сохранению спортивной формы животного и выступлениям на соревнованиях. В результате микротравмы, накапливаясь, приводят к развитию клинической картины, которая может быть неодинаковой: от выраженного отека с нарушением функции конечности до незначительной хромоты. Прогноз восстановления работоспособности лошади бывает разным и зависит, в частности, от локализации повреждения и его объема [6,7,8]. Патоморфологическая характеристика сухожилий при тендинопатиях описана фрагментарно, а патогенез этого состояния недостаточно изучен, что затрудняет дифференциальную диагностику с тендинитами и проведение лечебных мероприятий, соответствующих состоянию пациента.

В этой связи цель работы – изучить микроструктуру сухожилия поверхностного сгибателя пальца в области средней трети пясти у лошадей при тендинопатии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В исследовании использованы сухожилия поверхностного сгибателя пальца грудных и тазовых конечностей спортивных лошадей, павших от причин, не связанных с травмами сухожилий. У всех животных прижизненно была диагностирована тендинопатия. Отбирали изолированные кисти грудной конечности и стопы тазовой конечности, а также образцы сухожилия поверхностного сгибателя пальца 15-ти спортивных лошадей в возрасте от 6 до 15 лет. Гистологические исследования проводили по общепринятой методике: материал фиксировали в 10%-м растворе формалина, заливали в парафин, готовили срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином для выявления общей морфологической картины, по Ван -Гизон для оценки состояния пучков коллагеновых волокон и альциановым синим для выявления гликозаминогликанов. Микропрепараты изучали с помощью микроскопов Jenamed-2 и MicroScreen.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

При изучении микроскопическойкартины сухожилия поверхностного сгибателя пальца в средней трети пясти выявлена неоднородная морфологическая картина. Она характеризовалась сочетанием в структуре сухожилия относительно сохранных участков, имеющих типичные регионарные особенности строения и расположенные главным образом на периферии сухожильного тяжа, а также очагов дистрофических изменений и склероза, которые расположены в толще сухожиль-

ного тяжа диффузно (рис. 1).

Области с сохранной структурой наблюдали в поверхностных слоях сухожильного тяжа. В средней трети пясти структура ткани сухожилия поверхностного сгибателя пальца характеризуется плотной упаковкой пучков коллагеновых волокон 2 порядка, между которыми визуализируются тонкие прослойки перитенона (рис.1А). На поперечном срезе сухожилия отчетливо просматриваются функциональные единицы, описанные нами в предыдущих исследованиях – пучки коллагеновых волокон 2 порядка, окруженные рыхлой соединительной тканью и связанные с прилежащим звеном микроциркуляторного русла [9,10]. Под эпитенонием, а также в толще сухожилия, по углам функциональных единиц видны группы сосудов артериального и венозного типов, а также лимфатические сосуды, переходящие в более мелкие сосуды. Они окружены прослойками соединительной ткани с разнонаправленной фиброархитектоникой (рис.1Б). Очевидно, эти структуры создают механизм, предотвращающий избыточную компрессию сосудов при движении. В то же время они создают механизм стимуляции локальной гемодинамики, так как при компрессии и декомпрессии возникают условия для направленного продвижения крови, что улучшает перфузию тканей.

Важно отметить, что в крупных сосудах (ветвях пястных артерий и вен), расположенных в эпитеноне, наблюдали явления склероза стенки. Толстостенные артерии, характерные для дистальных отделов конечностей, имеют суженный просвет, в средней оболочке стенки сосуда видны многочисленные коллагеновые волокна, что свидетельствует о склерозе. Такие же изменения выражены в венах. Адвентиция сосудов сильно развита, богата эластическими волокнами. Паравазально отмечены признаки склероза. Лимфатические сосуды расширены, что указывает на нарушение венозного оттока (рис.2).

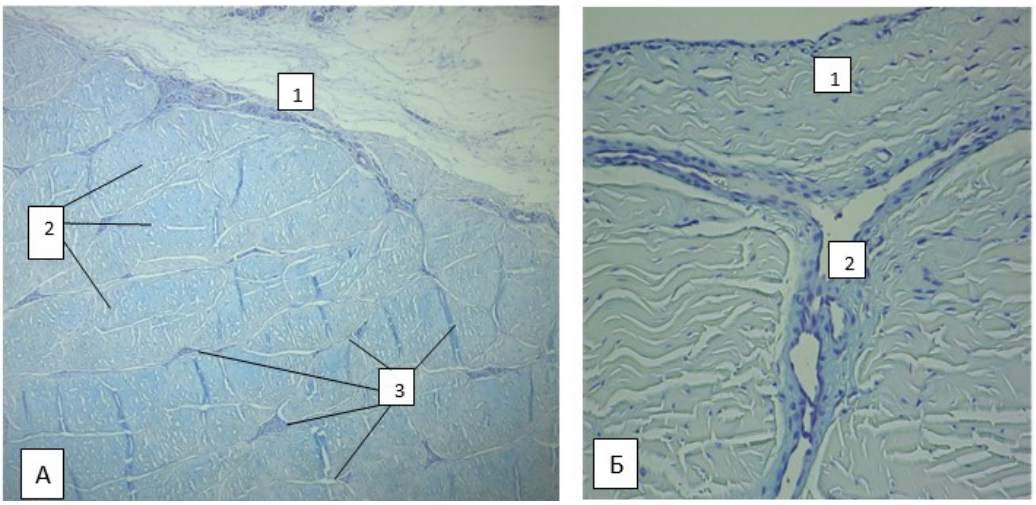


Рисунок 1 – Сухожилие поверхностного сгибателя пальца, средняя треть пясти. А – периферическая часть сухожилия имеет сохранную структуру, видны эпитенон с кровеносными сосудами (1), 2 – пучки коллагеновых волокон 2 порядка плотно упакованы, хорошо структурированы, разделены перитенонном (3). Б – в эпитеноне соединительнотканный футляр (1) окружает кровеносные сосуды (2). Альциановый синий, А – х40, Б – х200.

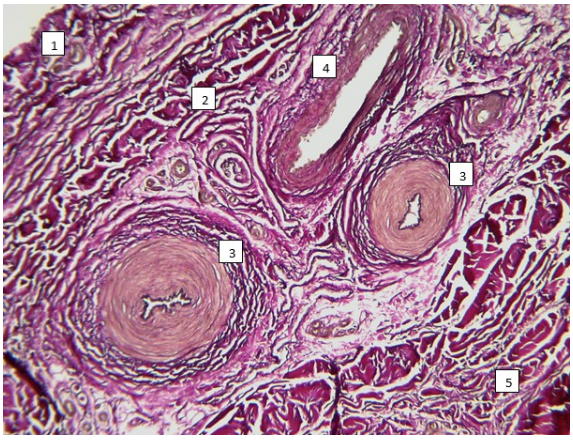


Рисунок 2 – Сухожилие поверхностного сгибателя пальца, область средостения. 1 – эпитенон; 2 – параваскулярная соединительная ткань; 3 – артерии и 4 – вена с признаками склероза стенки; 5 – пучки коллагеновых волокон сухожилия. Пикрофуксин-фукселин, х200.

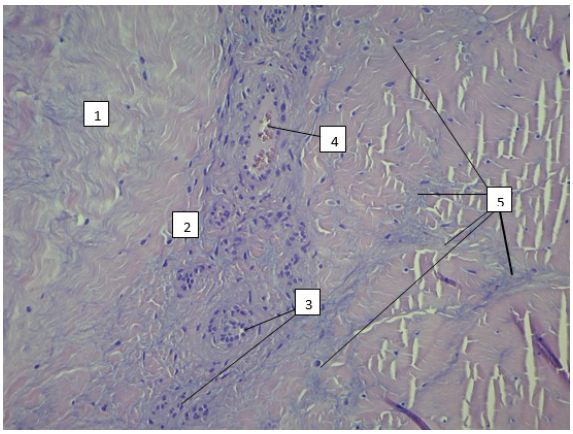


Рисунок 3 – Сухожилие поверхностного сгибателя пальца, средняя треть пясти.
1 – эпитенон с признаками склероза;
2 – соединительнотканный футляр;
3 – артерии с явлениями склероза стенки; 4 – вена с явлениями склероза стенки и плазмостазом,
5 – склеротические изменения в перитеноне. Гематоксилин и эозин, х200.

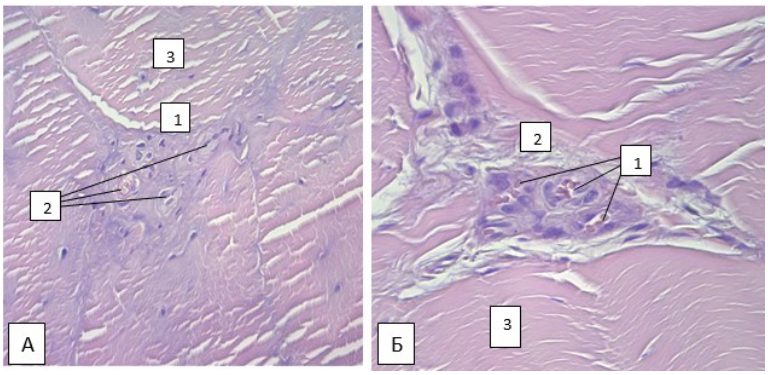


Рисунок 4 – Сухожилие поверхностного сгибателя пальца, средняя треть пясти.
А: 1 – соединительная ткань, окружающая сосуды, находится в состоянии мукоидного набухания межклеточного вещества, виден макрофагальный инфильтрат; 2 – кровеносные сосуды с облитерированным просветом. Б: 1 – кровеносные сосуды венозного типа с дистрофически измененными стенками, слущенным эндотелием, полнокровным просветом; 2 – окружающая соединительная ткань с признаками мукоидного набухания межклеточного вещества; 3 – пучки коллагеновых волокон сухожилия. Гематоксилин и эозин, А – х100, Б – х200.

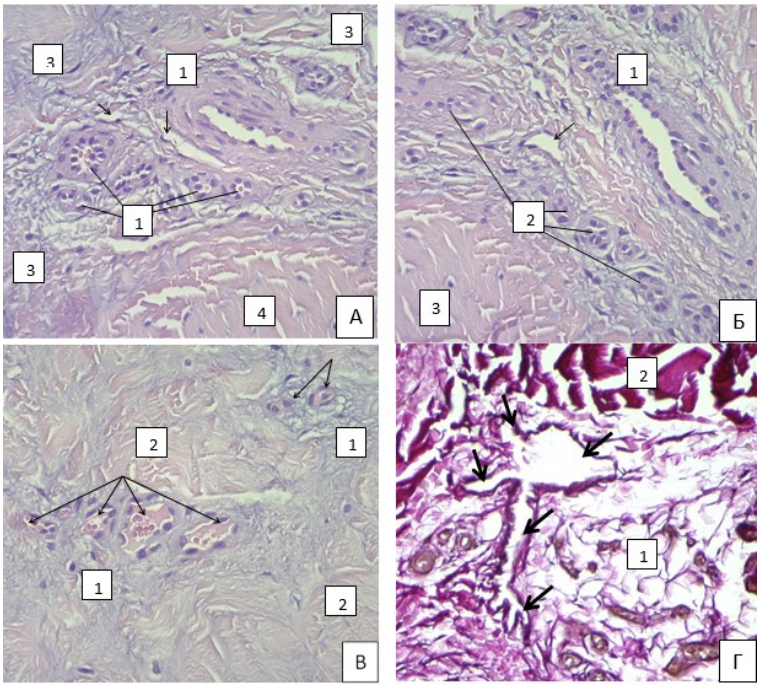


Рисунок 5 – Сухожилие поверхностного сгибателя пальца.
А: 1 – артерии разных калибров, стрелками показаны расширенные лимфатические сосуды; 2 – паравазальная соединительная ткань с признаками отека; 3 – очаг мукоидного набухания межклеточного вещества соединительной ткани; 4 – пучки коллагеновых волокон сухожилия. Гематоксилин и эозин, х100.
Б: 1 – вена с признаками мукоидного набухания и отека стенки, наблюдается отек паравазальных тканей; 2 – группа мелких сосудов артериального типа, стрелкой показан расширенный лимфатический сосуд; 3 – пучки коллагеновых волокон сухожилия. Гематоксилин и эозин, х100.
В: 1 – перитенон с признаками отека и мукоидного набухания; стрелками показаны сосуды венозного типа, в которых наблюдается гиперхромный, набухший, очагово слущенный эндотелий, мукоидное набухание стенки, явления стаза и плазмостаза; 2 – пучки коллагеновых волокон сухожилия с признаками отека, фибробласты не идентифицируются. Гематоксилин и эозин, х200.
Г: выраженный отек в паравазальной соединительной ткани под эпитеноном (1), стрелкой показана группа расширенных лимфатических сосудов; 2 - пучки коллагеновых волокон сухожилия. Ван-Гизон, х200.

В эпитенонии наблюдали явления склероза, которые локально были выражены весьма значительно и распространялись на соединительнотканные футляры, окружающие сосуды, а также на перитенон. Артерии и вены здесь также имеют признаки склероза стенок, в них наблюдаются явления стаза Рис.3). Все это указывает на снижение эффективности компрессионного механизма, поддерживающего регионарную гемодинамику.

При тендинопатиях в ткани сухожилия выявлены многочисленные, диффузно расположенные очаги дистрофических изменений межклеточного вещества в форме мукоидного и фибриноидного набухания (рис.4А). Пучки коллагеновых волокон с явлениями мукоидного набуха-

ния наблюдали чаще возле перитенона. Ткань здесь была отечна, на что указывает увеличение межволоконных пространств, а межклеточное вещество окрашивалось слабобазофильно. В очагах дистрофии наблюдали умеренную диффузную макрофагально-лимфоцитарную инфильтрацию (рис.4,5). Иногда в таких очагах регистрировали небольшие петрификаты (рис.6 Б, 7).

Наряду с этим обнаруживали и более обширные очаги деструкции с явлениями фибриноидного некроза. В них не визуализировали теноциты, в межклеточном веществе выявляли признаки отека, при этом пучки коллагеновых волокон имели гомогенный вид, окрашивались эозинофильно. Обращает на себя внимание состояние сосудов в этих областях. В небольших кровеносных сосудах венозного типа наблюдали деструктивные изменения стенок в форме дистрофических и склеротических изменений, а также полнокровие (рис.6А). Эти признаки сочетались с расширением лимфатических сосудов разного калибра, что дополняло картину нарушения венозного оттока крови. В межклеточном веществе соединительной ткани, расположенной паравазально, определяли признаки отека и мукоидного набухания, а также диффузные макрофагальные инфильтраты.

Наряду с этим выявлены очаги рубцовых изменений. Они наблюдались в перитеноне, эпитеноне и распространялись на прилежащие пучки коллагеновых волокон сухожилия. При этом отмечены признаки склерозирования стенок сосуда и облитерации просвета сосудов венозного типа. В очагах склероза наблюдали умеренную диффузную макрофагально-лимфоцитарную инфильтрацию. Нельзя исключить, что склеротические явления развиваются как исход дистрофии и некроза, возникших на фоне нарушения кровообращения в ходе спортивной эксплуатации лошади.

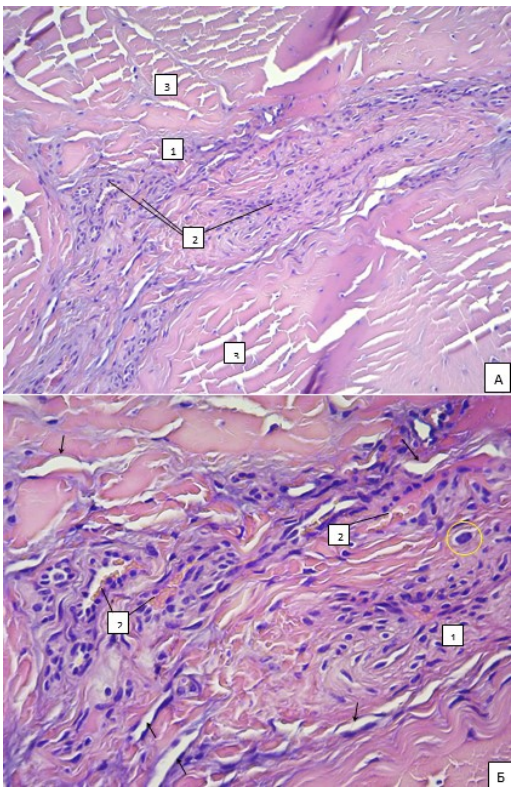


Рисунок 6 – Сухожилие поверхностного сгибателя пальца.
А: 1 – склероз в перитеноне; 2 - кровеносные сосуды со склерозированными стенками просвет сосудов спавшийся;
3 – ткань сухожилия с включениями волокнистого хряща.
Б – тот же препарат: 1 – артерия со склерозированными стенками и спавшимся просветом; 2 – сосуды венозного типа с явлениями склероза стенки, слущенным эндотелием, паравазальная соединительная ткань с признаками мукоидного набухания. Лимфатические сосуды расширены (показаны стрелками), виден петрификат (обведен).
Гематоксилин и эозин, А – х100, Б – х200.

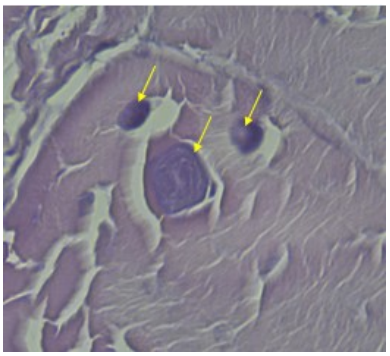


Рисунок 7 – Сухожилие поверхностного сгибателя пальца, средняя треть пясти. 1 – петрификаты (стрелки) в очаге фибриноидного некроза сухожилия. Гематоксилин и эозин, х400.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате проведенных исследований получены оригинальные данные, позволяющие дополнить представления о патогенезе тендинопатий у спортивных лошадей. Признаки хронического воспаления, многочисленные очаги деструкции ткани в сочетании с умеренными реактивными изменениями в ткани свидетельствуют о длительном, многолетнем течении патологического процесса. Не исключено, что первые очаги деструкции возникают на фоне перетренированности, столь свойственной режиму тренинга спортивных лошадей. Они могут формироваться как при частых значительных нагрузках и перегрузках, так и при монотонной работе в отсутствии достаточного периода отдыха. В этих условиях у лошади развивается гипоксия, в том числе локальная. Поскольку сухожилие является умеренно васкуляризованной тканью, постольку недостаточная перфузия не позволяет поддерживать окислительно-восстановительные процессы на необходимом уровне. Поэтому в условиях, когда в хорошо васкуляризованных скелетных мышцах метаболизм восстанавливается, в сухожилиях этот процесс еще не завершен. Условия гипоксии сами по себе создают фон для развития соединительной ткани и склерозирования. Не исключено, что именно таким образом постепенно нарастают признаки склероза в эпитеноний и перитенонии, а также в стенках кровеносных сосудов, которые были выявлены в наших исследованиях. Все это, несомненно, снижает возможности регионарной гемодинамики и усугубляет состояние гипоксии. Склеротические изменения, в свою очередь, ведут к снижению упруго-деформативных свойств сухожилий, что может приводить к возникновению новых микротравм. Постоянный «износ» коллагеновых конструкций сухожилия диктует необходимость перманентного ремоделирования ткани, а в условиях недостаточной перфузии и постоянных нагрузок этот процесс может находиться в незавершенной фазе в то самое время, когда лошадь снова выступает на соревнованиях или находится в режиме интенсивного тренинга. Именно в этих условиях, на наш взгляд, и формируются очаги дистрофических изменений сухожилия. Это вполне могут быть те регионы ткани сухожилия, которые не успели пройти этап ремоделирования. Ткань, подлежащая резорбции, не была лизирована, а на ее месте не сформировалась новая, полноценная в функциональном отношении. Очаг подвергся дистрофическим изменениям, в дальнейшем – некрозу с последующим исходом в склероз. Такие участки ткани сухожилия становятся областями наименьшей устойчивости, а на границе с ними возникает концентрация напряжений, что может приводить к вовлечению в патологический процесс новых пучков коллагеновых волокон. При этом в сухожилии, по-видимому, происходит перегрузка и, отчасти, рабочая гипертрофия оставшихся сохранных пучков коллагеновых волокон, за счет чего компенсируется функциональная пригодность сухожилия. Однако на этом фоне, по-видимому, нарушения кровообращения и дистрофические изменения продолжают медленно развиваться, внося свой вклад в патогенез, а также в сонографическую и клиническую картину тендопатий.

TENDINOPATHY OF THE SUPERFICIAL FLEXOR OF THE FINGER IN HORSES: MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE MIDDLE THIRD OF THE PASTERN

Borkhunova E.N. [1] – d. biol. n., professor of the department. Anatomy and histology of animals named after prof. A.F. Klimov; **Zhukova M.V.** [2] – graduate student, main vet. doctor of the clinic Maxima Vet; **Gasanguseynova E.K.** [1] – candidate biol.of Sciences, Associate Professor.

[1] Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology

[2] Maxima Vet, Moscow region, Russia

*black717@mail.ru

ABSTRACT

A feature of the training process in riding sports horses is the repeated uneven maximum weight loads on the limbs and, in particular, on their tendon-ligamentous apparatus. The study used the tendons of the superficial flexor of the pectoral and pelvic extremities of sports horses that died from causes unrelated to tendon injuries. Tendinopathy was diagnosed in all animals during their lifetime. Isolated hands of the thoracic limb and feet of the pelvic limb were selected, as well as samples of the tendon of the superficial flexor of the finger of 15 sports horses aged 6 to 15 years. Histological studies were carried out according to a generally accepted technique: the material was fixed in a 10% formalin solution, poured into paraffin, sections were prepared, which were stained with hematoxylin and eosin to identify the general morphological picture, according to Van Gieson to assess the condition of bundles of collagen fibers and alcyan blue to identify glycosaminoglycans. The micropreparations were studied using Jenamed-2 and MicroScreen microscopes. As a result of the conducted research, original data were obtained. Signs of chronic inflammation, numerous foci of tissue destruction in combination with moderate reactive changes in the tissue indicate a long, long-term course of the pathological process. Since the tendon is a moderately vascularized tissue, insufficient perfusion does not allow maintaining redox processes at the required level. Therefore, in conditions where metabolism is restored in well-vascularized skeletal muscles, this process has not yet been completed in tendons. The conditions of hypoxia themselves create a background for the development of connective tissue and sclerosis. It is possible that this is how the signs of sclerosis gradually increase in the epithenonia and perithenonia, as well as in the walls of blood vessels, which were identified in our studies.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Борхунова Е.Н. Строение и места наименьшей устойчивости костно-сухожильных соединений сгибателей пальца лошади. Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2022. № 6. С. 6-17.

2.Chesen A.B., Dabareiner R.M., Chaffin M.K., Carter G.K. Tendinitis of the proximal aspect of the superficial digital flexor tendon in horses: 12 cases (2000-2006). J.Am.Vet.Med.Assoc.2009. Vol.234(11). P. 1432-1436.

3. Dowling B.A., Dart A.J. Mechanical and functional properties of the equine superficial digital flexor tendon. Vet J. 2005. Vol. 170(2). P.184-192.

4.Борхунова Е.Н. Морфологические изменения в ткани сухожилия поверхностного сгибателя пальца у лошадей при тендинитах. Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2021. № 3. С. 6-13.

5.Ali O.J., Comerford E.J., Clegg P.D., Canty-Laird E.G. Variations during ageing in the three-dimensional anatomical arrangement of fascicles within the equine superficial digital flexor tendon. Eur Cell Mater. 2018.Vol.35 (13). P.87-102.

6.Жукова М.В., Борхунова Е.Н. Ультрасонографическая визуализация морфологических изменений в ткани сухожилия поверхностного сгибателя пальца у спортивных лошадей при тендинопатии. Международный вестник ветеринарии. 2023. №2. С.281-291.

7. Борхунова Е.Н., Жукова М.В. Морфологические и ультрасонографические корреляции при тендинитах поверхностного сгибателя пальца у спортивных лошадей / В сборнике: Актуальные пробле-

мы ветеринарной медицины, зоотехнии, биотехнологии и экспертизы сырья и продуктов животного происхождения. Сборник трудов 2-й Научно-практической конференции. Под общей редакцией С.В. Позябина, Л.А. Гнездиловой. Москва, 2023. С. 36-38

8. Жукова М.В., Борхунова Е.Н., Гасангусейнова Э.К. Инцидентность травм сухожилия поверхностного сгибателя пальца у спортивных лошадей / В сборнике: Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии, биотехнологии и экспертизы сырья и продуктов животного происхождения. Сборник трудов 2-й Научно-практической конференции. Под общей редакцией С.В. Позябина, Л.А. Гнездиловой. Москва, 2023. С. 35-36.

9. Борхунова Е.Н., Жукова М.В. Общие закономерности микроорганизации сухожилий лошади. Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2023. № 10. С.17-28

10.Spiesz E.M., Thorpe C.T., Thurner P.J., Screen H.R.C. Structure and collagen crimp-patterns of functionally distinct equine tendons, revealed by quantitativepolarised light microscopy (qPLM). Acta Biomater. 2018 Vol,70 (1). P.281-292.

REFERENCES

1. Borkhunova E.N. The structure and places of least stability of the bone-tendon joints of the flexors of the horse's finger. Veterinary medicine, animal science and biotechnology. 2022. No. 6. pp. 6-17. [in Russ.]

2.Chesen A.B., Dabareiner R.M., Chaffin M.K., Carter G.K. Tendinitis of the proximal aspect of the superficial digital flexor tendon in horses: 12 cases (2000-2006). J.Am.Vet.Med.Assoc.2009. Vol.234(11). P. 1432-1436.

3. Dowling B.A., Dart A.J. Mechanical and functional properties of the equine superficial digital flexor tendon. Vet J. 2005. Vol. 170(2). P.184-192.

4. Borkhunova E.N. Morphological changes in the tendon tissue of the superficial flexor of the finger in horses with tendinitis. Veterinary medicine, animal science and biotechnology. 2021. No. 3. pp. 6-13. [in Russ.]

5.Ali O.J., Comerford E.J., Clegg P.D., Canty-Laird E.G. Variations during ageing in the three-dimensional anatomical arrangement of fascicles within the equine superficial digital flexor tendon. Eur Cell Mater. 2018.Vol.35 (13). P.87-102.

Zhukova M.V., Borkhunova E.N. Ultrasonographic visualization of morphological changes in the tendon tissue of the superficial flexor of the finger in sports horses with tendinopathy. International Bulletin of Veterinary Medicine. 2023. No.2. pp.281-291. [in Russ.]

Borkhunova E.N., Zhukova M.V. Morphological and ultrasonographic correlations in tendinitis of the superficial flexor of the finger in sports horses / In the collection: Actual problems of veterinary medicine, animal science, biotechnology and expertise of raw materials and animal products. Proceedings of the 2nd Scientific and Practical Conference. Under the general editorship of S.V. Pozyabin, L.A. Gnezdilova. Moscow, 2023. pp. 36-38 [in Russ.]

8. Zhukova M.V., Borkhunova E.N., Gasanguseynova E.K. Incidence of injuries of the tendon of the superficial flexor of the finger in sports horses / In the collection: Actual problems of veterinary medicine, animal science, biotechnology and expertise of raw materials and animal products. Proceedings of the 2nd Scientific and Practical Conference. Under the general editorship of S.V. Pozyabin, L.A. Gnezdilova. Moscow, 2023. pp. 35-36. Gnezdilova. Moscow, 2023. pp. 36-38 [in Russ.]

9. It's Borkhunova.N., Zhukova M.V. General regularities of microorganism’s tendon maladies. Veterinary, zootechnics and biotechnology. 2023. № 10. S.17-28 [in Russ.]

10.Spiesz E.M., Thorpe C.T., Thurner P.J., Screen H.R.C. Structure and collagen crimp-patterns of functionally distinct equine tendons, revealed by quantitativepolarised light microscopy (qPLM). Acta Biomater. 2018 Vol,70 (1). P.281-292.

УДК: 612.017.11:636.2.082.232
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.277

ПОКАЗАТЕЛИ ОБЩЕЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА, ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ПОРОДЫ

Абилов А.И. [1] **–** д--р биол. наук, проф., гл. науч. сотр.; **Новгородова И.П.** [1] **–** канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории клеточной инженерии; **Артемьева О.А.** [1] **–** канд. биол. наук, зав. Лаборатории; **Комбарова Н.А.** [2] **–** гл. технолог, вед. науч. сотр.; **Корнеенко-Жиляев Ю.А.** [3] **–** руководитель.

[1] Федеральный исследовательский центр животноводства ВИЖ им. Л.К. Эрнста
[2] АО «ГЦВ»,
[3] «Нацплемсоюз»

* ahmed.abilov@mail.ru

Ключевые слова: *резистентность, быки, возраст, происхождение, бактерицидная активность сыворотки крови (БАСК), лизоцимная активность сыворотки крови (ЛАСК).*

Keywords: *resistance, bulls, age, origin, bactericidal activity of blood serum (BASK), lysozyme activity of blood serum (LASK).*

Финансирование. *Работа выполнена в рамках государственного задания при финансовой поддержке фундаментальных научных исследований Минобрнауки РФ по теме FGGN-2024-0014.*

Поступила: 25.01.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Гуморальные факторы, такие как бактерицидная и лизоцимная активность являются наиболее значимыми для резистентности организма. Цель исследований заключалась в изучении неспецифической резистентности быков-производителей в зависимости от возраста, места адаптации до поступления в РФ, происхождения и породы. Работа проводилась в АО «Головной центр воспроизводства» (АО «ГЦВ») на животных в возрасте от 2 до 9 лет в количестве 34 головы. Были изучены такие показатели как процент лизиса, количество лизоцима (мкг) в 1 мл сыворотки крови, удельные единицы активности (ед.а.) в пересчете на 1 мг белка и бактерицидная активность сыворотки крови в процентах. Лизоцимная (ЛАСК) и бактерицидная активность (БАСК) были изучены при использовании микробиологического анализатора Multiskan FC (Финляндия). Таким образом, установлено, что общая резистентность быков-производителей зависит от возраста и имеет достоверные различия между животными разных возрастных групп. В возрасте 2-3 лет достоверность отсутствует. Достоверные отличия между быками по изученным нами параметрами начинается с 5-летнего возраста при $P<0,05$ по концентрации общего белка и лизоциму и уд.ед. а. белка. Возрастной диапазон не оказывал влияния на БАСК. Более заметные достоверные отличия зафиксированы у животных

(контрастных возрастных периодов) по общей резистентности и имели достоверные отличия на уровне P≤0,01 по проценту лизиса, по количеству лизоцима в сыворотке крови (P≤0,001), удельным единицам активности (P≤0,001). Выяснено, что быки-производители, поступившие из разных регионов Европы (Нидерланды и Германия + Люксембург) в одном и том же возрастном диапазоне не имеют между собой достоверных отличий по общей резистентности изучаемых нами параметров (БАСК и ЛАСК) в условиях их эксплуатации в Московском регионе РФ.

ВВЕДЕНИЕ/ INTRODUCTION

Естественная резистентность организма связана с его иммунологической реактивностью. Для исследований естественной резистентности используют разные тесты. К наиболее часто используемым из них, относятся такие как лизоцимная и бактерицидная активность сыворотки крови [3, 4].

Физиологическая роль крови в организме млекопитающих, в том числе крупного рогатого скота многогранна и выполняет ряд жизненно-важных функций в организме (питательная, дыхательная, защитная, регуляторная, механическая, буферная и т.д.) По результатам исследований многих авторов выяснено, что по гематологическим и биохимическим показателям крови можно определить животных, имеющих высокую, среднюю и низкую энергии роста [1, 2].

Увеличение содержания фракции глобулинов в сыворотке крови организма животных характеризует их высокую стрессоустойчивость [5, 6]. По литературным данным известно, что одним из составляющих резистентности организма являются гуморальные факторы: бактерицидная, лизоцимная и фагоцитарная активность [7].

Бактерицидная активность (БАСК) обуславливается содержанием в крови лизоцима, пропердина, интерферона, а также присутствием бактериолизина, способных растворять клетки бактерий [6]. БАСК является интегральным неспецифическим отображением суммарной антимикробной активности сыворотки крови животных и указывает на степень защиты от микроорганизмов, чувствительных к нарушению внутренних мембранных структур.

Определение БАСК основано на свойстве сыворотки крови оказывать бактерицидное и бактериостатическое действие на микроорганизмы. Уровень БАСК характеризуется степенью задержки прироста биомассы тест-микроба в жидкой питательной среде под влиянием исследуемой сыворотки крови, выраженной в процентах [8].

В основу принятых методов определения лизоцима в сыворотки крови и других жидкостях организма положен способ, сущность которого состоит в лизисе эталонной культуры Micrococcus Lysodiercticus в присутствии лизоцима [9, 8]. Определение активности лизоцима в сыворотке крови основано на способности лизоцима растворять взвешенный в агаре ацетоновый порошок из клеточных оболочек Micrococcus Lysodiercticus. Лизоцим - фермент муралидаза, гидролизирующий мукополисахариды клеточной стенки бактерии [10, 11].

В. Бальшакова (2015) в своих исследованиях указывает на то, что рост ЛАСК у животных различных генотипов был неравномерным в разные периоды развития и зависел от сочетания пород при скрещивании [6].

Например, БАСК, ЛАСК и фагоцитарная активность у коров повышается с увеличением срока стельности и снижается на второй день после родов [12, 13]. В работах С.А. Чамый (2014) с помощью величины фагоцитарной активности оценили резервные возможности нейтрофилов по поглощению и нейтрализации микробов, крупных макромолекул или корпускулярных структур [14].

Некоторые авторы, изучая роль экологических факторов в развитии гуморального иммунодефицита у животных, пришли к выводу, что количество лизоцима снижается при интоксикации организма

солями тяжелых металлов. При поступлении в живой организм тяжелых металлов (кобальт, никель, медь, серебро, бериллий, сурьма, мышьяк, свинец, кадмий и других), они подавляют сопротивляемость организма, вызывают стойкое нарушение иммунобиологического статуса, дисбаланс в функционировании кроветворной и иммунной систем [15-17].

Цель исследований - провести исследования, направленные на изучение состояния быков-производителей по неспецифической резистентности в зависимости от возраста, места рождения, происхождения и породы.

Задачи:

1. Изучить динамику неспецифической резистентности у быков-производителей разных возрастных диапазонов.

2. Определить общую резистентность быков-производителей с учетом контрастного возрастного периода.

3. Выявить неспецифическую резистентность молодых быков (в возрасте 3 лет) в зависимости от породы.

4. Выяснить влияние места рождения быков-производителей на общую резистентность.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проведено в лабораториях клеточной инженерии и микробиологии ФГБНУ ФИЦ ВИЖ имени Л.К. Эрнста, на базе АО «Головной центр воспроизводства» (АО «ГЦВ») на быках-производителях (n=34) в разном возрасте от 2 до 9 лет. Быков разделили на V групп с нарастающим возрастом: I группа - 2 года, n=3; II группа - 3 года, n=3; III группа - 5 лет, n=12; IV группа - 6 лет, n=12 и V группа - 9 лет, n=4.

Аналогичные исследования проводили с учетом возрастного периода быков-производителей; животных разделили на II группы: I группа - быки в возрасте 2-3 года, n=6 и II группа - в возрасте 5-9 лет, n=16.

При изучении неспецифической резистентности у молодых быков-производителей разных пород были сформированы III группы животных: I группа - быки голштинской породы черно-пестрой масти, n=5; II группа – симментальской породы, n=5 и III группа - костромской породы, n=4. Все быки-производители были молодые, в возрасте 3-х лет.

При изучении неспецифической резистентности у быков-производителей Европейской селекции, которые были рождены и адаптированы в разных географических местах рождения до поступления в РФ с учетом их происхождения. Животные, поступившие из Европы, были разделены на II группы: I группа - из Нидерландов, n=6 и II группа - из Германии и Люксембурга, n=6. Возраст животных в этих группах составил 6 лет (самый активный период эксплуатации быков-производителей).

Забор крови у животных для приготовления сыворотки был проведен из яремной вены в области третьей части шеи, в стерильные вакуумные пробирки, объемом 10 мл. В сыворотке крови животных определяли ЛАСК и БАСК. Определение ЛАСК и БАСК проводили по модифицированной методике с использованием микробиологического анализатора Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific Inc., Финляндия) по следующим показателям: процент лизиса (%), количество лизоцима в 1 мл сыворотки крови (мкг/мл), удельным единицам активности в пересчете на 1 мг белка (ед.а/мг), бактерицидной активности (%), описанной Д.А. Переселковой с коллегами [18].

Экспериментальные данные были обработаны с использованием программы Microsoft Office Excel 2007. Достоверность различий между показателями была рассчитана по критерию t-Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESUTS

К одним из важных показателей продуктивности животных относится изучение их общей резистентности. В эксперименте на 34 головах быков-производителей, содержащихся в АО «ГЦВ», была проведена работа по оценке ЛАСК и БАСК в зависимости от их возраста, происхождения и породы.

На основании проведенных исследований по общей резистентности быков-производителей в зависимости от возраста были получены данные, представленные в таблице 1.

Анализ таблицы 1 показывает, что общая резистентность быков-производителей в среднем по проценту лизиса составляет 33,4%, количество лизоцима в сыворотке крови находится на уровне 0,3±0,2 мкг/мл с вариабельностью 0,15-0,54 мкг/мл, бактерицидная активность 25,7% с вариабельностью 8,0-38,4%.

Наблюдается тенденция зависимости ЛАСК от возраста. Учитывая, что лизоцимная активность и БАСК взаимосвязаны с концентрацией общего белка, был проведен анализ состояния общего белка в сыворотке крови в зависимости от возраста. Было выявлено, что в большинстве случаев между возрастными категориями имеется достоверная разница на уровне P≤0,05.

Также была установлена достоверная разница по проценту лизоцимной активности между II-III группами (P≤0,01), между II-V (P≤0,05) и между III-IV группами (P≤0,05). По количеству лизоцима в сыворотке крови достоверная разница зафиксирована между I, III и V группами (P≤0,05), между II и III группами (P≤0,01), между III и IV группами (P≤0,001) и между IV-V группами достоверность была отмечена на уровне P≤0,05.

По удельным единицам активности белка (в мг) достоверное отличие отмечено при P≤0,05; P≤0,01 и P≤0,001. В более зрелом возрасте животных (5 лет и выше) активность его снижается по отношению к показателям быков-производителей более молодого возраста почти в 2-3 раза. Аналогичное снижение также отмечено по количеству лизоцима (в мкг/мл), так чем выше возраст, тем меньше уровень лизоцима в сыворотке крови.

Таблица 1– Общая резистентность быков-производителей разных возрастных диапазонов

Группа	Возраст быков, лет	Кол-во быков, n	Общий белок, г/л	% лизиса	Лизоцим мкг/мл в сыворотке крови	Уд.ед.а. ед.а/мг белка	Бактериц. активность, %
I	2	3	71,20±4,10	37,45±3,47	0,46±0,06	1,62±1,26	23,81±4,66
II	3	3	72,37±2,94	38,73±0,91	0,45±0,04	1,55±0,14	27,77±2,79
III	5	12	86,76±1,72	29,78±1,35	0,19±0,01	0,37±0,03	25,52±2,66
IV	6	12	81,78±1,53	35,86±2,05	0,34±0,03	0,97±0,13	25,22±1,83
V	9	4	89,12±1,49	30,92±2,31	0,20±0,04	0,40±0,15	27,26±0,71
всего		34	82,69±1,35	33,38±1,04	0,29±0,02	0,79±0,10	25,70±1,16
Достоверность между группами							
I-II	нд			нд	нд	нд	нд
I-III	P≤0,05			нд	P≤0,05	P≤0,001	нд
I-IV	P≤0,1			нд	нд	нд	нд
I-V	P≤0,05			нд	P≤0,05	P≤0,05	нд
II-III	P≤0,05			P≤0,001	P≤0,01	P≤0,001	нд
II-IV	P≤0,05			нд	нд	P≤0,05	нд
II-V	P≤0,05			P≤0,05	нд	P≤0,05	нд
III-IV	нд			P≤0,05	P≤0,001	P≤0,001	нд
III-V	нд			нд	нд	нд	нд
IV-V	P≤0,05			нд	P≤0,05	P≤0,05	нд

Таблица 2 – Вариабельность общей резистентности быков-производителей в зависимости от возрастных диапазонов

Группа	Возраст быков, лет	Кол-во быков, n	Общий белок, г/л	% лизиса	Лизоцим мкг/мл в сыворотке крови	Уд.ед.а. ед.а/мг белка	Бактерицидная актив., %
Вариабельность (min-max)							
I	2	3	67,8-77,9	31,89-41,22	0,38-0,54	1,37-1,46	16,61-29,56
II	3	3	67,6-75,2	37,74-40,19	0,40-0,52	1,41-1,77	24,59-32,18
III	5	12	76,9-97,3	22,48-38,34	0,15-0,22	0,21-0,53	8,00-38,43
IV	6	12	74,7-90,0	27,14-44,26	0,20-0,45	0,38-1,33	11,77-30,87
V	9	4	85,7-91,3	25,61-35,17	0,15-0,30	0,24-0,79	25,43-28,00
Соотношение (min-max)							
I	2	3	0,87	0,77	0,70	0,94	0,56
II	3	3	0,90	0,94	0,77	0,80	0,76
III	5	12	0,79	0,59	0,68	0,40	0,21
IV	6	12	0,83	0,61	0,44	0,29	0,38
V	9	4	0,94	0,73	0,50	0,30	0,91

Таблица 3 – Общая резистентность быков–производителей с учетом возрастного периода

Возраст, лет	Кол-во быков, n	Общий белок, г/л	ЛАСК			БАСК, %
			% лизиса	Лизоцим, мкг/мл	Уд. ед. а, ед	
2,5±0,2	6	71,8±2,0	38,1±1,5	0,4±0,0	1,6±0,1	25,8±2,4
6,0±0,5***	16	87,3±1,3***	30,1±1,1**	0,19±0,0***	0,4±0,0***	26,0±2,0
Разница	-	15,57	8,02	0,26	1,21	-

Примечание: *** P≤0,001, ** P≤0,01

Таблица 4 – Неспецифическая резистентность молодых быков в зависимости от породы

Группа	Порода	Кол-во голов, n	Общий белок, г/л	ЛАСК			БАСК, %
				% лизиса	лизоцим, мкг/мл	уд. ед. а, ед	
I	Голштинская	5	72,37±2,94	38,73±0,91	0,45±0,04	1,55±0,14	27,77±2,79
II	Симментальская	5	71,42±1,11	33,52±1,91	0,36±0,04	1,20±0,20	25,25±5,03
III	Костромская	4	72,55±0,59	40,33±4,85	0,47±0,05	1,61±0,20	25,38±2,00
min-max							
I	Голштинская	5	67,6-75,2	37,40-70,19	0,40-0,52	1,41-1,77	24,59-32,18
II	Симментальская	5	67,6-74,3	27,07-38,66	0,25-0,47	0,77-1,72	9,16-36,63
III	Костромская	4	71,4-74,00	26,02-47,45	0,34-0,54	1,08-1,95	20,80-30,35
соотношение min/max							
I	Голштинская	5	0,90	0,93	0,77	0,80	0,76
II	Симментальская	5	0,91	0,70	0,53	0,45	0,25
III	Костромская	4	0,96	0,55	0,63	0,55	0,69

На следующем этапе исследований был проведен анализ данных у этих же групп с учетом вариабельности (min-max) и соотношения min-max показателей в единицах (таблица 2).

Из таблицы 2 видно, что общий белок по вариабельности имеет сходные показатели в I и II группах у молодых быков-производителей (в возрасте 2-3 лет) и по min и max значениям и схожие показатели в более зрелом возрасте (5-6 лет) за счет более активной фазы их эксплуатации. В тоже время концентрация общего белка у животных 9-летнего возраста между min-max находилась на уровне 86-91 г/л. Соотношения min-max значений во всех группах была на уровне 0,80 и выше единиц и это указывает на то, что животные в группах имели практически одинаковый уровень общего белка и рацион по белку был сбалансирован на достаточно высоком уровне.

Процент лизиса по min-max значимости в молодом возрасте у быков находился на уровне 32-41%. В то же время в группах III, IV и V разница между min и max показателями имела существенные отличия зарегистрированные и по количеству лизоцима в сыворотке крови, и по удельным единицам активности белка. Отмечено, что БАС имеет индивидуальные характеристики у каждого быка-производителя, так как были отмечены существенные отличия между min и max значениями у всех возрастных групп, кроме старых животных (9 лет). Соотношение показателей зарегистрировано на уровне 0,91 единиц. То есть у всех быков-производителей в старом возрасте бактерицидная активность находиться почти на одинаковом уровне.

Был проведен более глубокий анализ изученных данных с учетом контрастного возрастного периода у быков-производителей (таблица 3). Животные по возрастным диапазонам отличались на высоко достоверном уровне между собой ($P \leq 0,001$). Полученные научные данные позволяют сделать вывод о достоверном влиянии возраста на изучаемые нами показатели.

Анализ таблицы 3 показывает, что содержание общего белка, процент лизиса и количество лизоцима в сыворотке, а также уровень удельных единиц активности находились на высоко достоверном уровне в зависимости от возраста ($P \leq 0,001$). В то же время БАСК не зависел от возраста и имел в обеих группах схожие показатели на уровне 25,8 и 26,0%, соответственно.

Нами было также проведено исследование, связанное с изучением общей резистентности быков-производителей разных пород одинакового возраста. Данные представлены в таблице 4.

Анализ таблицы 4 показывает, что при одинаковом возрасте в независимости от породы все изученные нами показатели по общей резистентности имели схожий уровень и не имели достоверных отличий между собой, в том числе и по содержанию общего белка в сыворотке крови.

Была отмечена тенденция снижения уровня лизоцимной активности и по проценту лизиса, и по количеству лизоцима в сыворотке крови (мкг/мл), и по удельным единицам активности (ед.а./мг), а также БАСК у быков-производителей симментальской породы.

На следующем этапе исследований был проведен анализ животных Европейской селекции, рожденных и адаптированных в разных географических местах до поступления в РФ. Данные анализа представлены в таблице 5.

Анализ таблицы 5 показывает, что место рождения быков-производителей в разных регионах Европы не имеют между собой достоверное отличие по общей резистентности. Однако, необходимо отметить, что у животных немецкой и люксембургской селекции по количеству общего белка, проценту лизиса, лизоцима в сыворотке крови и БАСК имеются тенденции повышения в отношении быков из Нидерландов.

Таблица 5 – Общая резистентность быков-производителей в зависимости от места рождения

Место рождения	Общий белок, г/л	ЛАСК			БАСК, %
		% лизиса	лизоцим, мкг/мл	уд. ед. а, ед	
Нидерланды	78,28±1,81	31,35±2,56	0,34±0,03	1,01±0,13	25,81±1,84
Германия	83,58±1,74	36,64±3,05	0,38±0,03	1,10±0,14	24,80±3,44
Вариабельность (min-max)					
Нидерланды	73,8-85,7	26,4-41,7	0,25-0,45	0,71-1,49	18,71-29,69
Германия	80,3-90,0	27,98-44,26	0,30-0,45	0,73-1,37	11,77-30,87
соотношение min/max, ед					
Нидерланды	0,86	0,63	0,56	0,48	0,63
Германия	0,89	0,63	0,67	0,53	0,38

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

1. Выявлено, что неспецифическая резистентность у быков-производителей имеет достоверные различия с учетом возрастной динамики в отношении между животными разных возрастных групп после 2-3 летнего возраста. Установлено, что общая резистентность быков-производителей зависит от возраста и имеет достоверные различия между быками разных возрастных групп. В возрасте 2-3 лет достоверность отсутствует. Достоверные отличия между животными по изученным нами параметрами начинается с 5-летнего возраста при $P<0,05$ по концентрации общего белка и лизоциму и уд.ед. а. белка. Возрастной диапазон не оказывал влияния на БАСК.

2. При контрастном возрасте (2,5 и 6 лет) установлено высоко достоверные отличия у быков-производителей по содержанию общего белка, количеству лизоцима и удельных единиц активности на уровне $P<0,001$, процент лизиса отличался на уровне $P<0,01$.

3. Выяснено, что быки-производители, поступившие из разных регионов Европы (Нидерланды и Германия + Люксембург) в одном и том же возрастном диапазоне не имеют между собой достоверных отличий по общей резистентности изученных нами параметров (БАСК и ЛАСК) в условиях их эксплуатации в Московском регионе РФ.

4. Общая резистентность у быков-производителей зависит от возраста (контрастных возрастных периодов) и имеет достоверные отличия по проценту лизиса ($P\leq0,01$), по количеству лизоцима в сыворотке крови ($P\leq0,001$), удельным единицам активности ($P\leq0,001$).

INDICATORS OF GENERAL RESISTANCE OF SIRES DEPENDING ON AGE, ORIGIN AND BREED

Abilov A.I. [1] **–** Chief Researcher, Doctor of Biological Sciences, Professor; **Novgorodova I.P.** [1] **–** Senior Researcher, Candidate of Biological Sciences, Cell Engineering Laboratory; **Artemieva O.A.** [1] **–** head laboratory, leading researcher, candidate of biological sciences; **Kombarova N.A.** [2] – chief technologist; **Korneenko-Giljev Ya.A.** [3] **–** Head.

[1] Federal Research Center for Animal Husbandry
named after Academy Member L.K. Ernst

[2] AO «GCV»

[3] «Natsplemsoyuz»

* ahmed.abilov@mail.ru

Financing. *The work was carried out within the framework of the state assignment with the financial support of fundamental scientific research of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation on the topic FGGN-2024-0014.*

ABSTRACT

Humoral factors such as bactericidal and lysozyme activity are the most significant for the body's resistance. The purpose of the research was to study the nonspecific re-

sistance of sires depending on age, place of adaptation before entering the Russian Federation, origin and breed. The work was carried out at JSC "Head Reproduction Center" (JSC "GCV") on animals aged from 2 to 9 years in the amount of 34 heads. Such indicators as the percentage of lysis, the amount of lysozyme (mcg) in 1 ml of blood serum, specific units of activity (u.a.) calculated per 1 mg of protein and the bactericidal activity of blood serum as a percentage were studied. Lysozyme (LASK) and bactericidal activity (BASK) were studied using a Multiskan FC microbiological analyzer (Finland). Thus, it has been established that the general resistance of sires depends on age and has significant differences between animals of different age groups. At the age of 2-3 years there is no reliability. Significant differences between bulls according to the parameters we studied begin from 5 years of age at P <0.05 in the concentration of total protein and lysozyme and specific units. A. squirrel. Age range had no effect on BAS. More noticeable significant differences were recorded in animals (of contrasting age periods) in terms of general resistance and had significant differences at the level of P≤0.01 in the percentage of lysis, in the amount of lysozyme in the blood serum (P≤0.001), and specific units of activity (P≤0.001) . It was found that sires coming from different regions of Europe (the Netherlands and Germany + Luxembourg) in the same age range do not have significant differences among themselves in the overall resistance of the parameters we studied (BASK and LASK) under the conditions of their operation in the Moscow region RF.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Базанова Н. У. Физиология сельскохозяйственных животных / Н. У. Базанова, А. Н. Голиков, З. К. Кожебеков, М. Ф. Мещерякова, Г. В. Паршутин, А. Н. Сафонов. Под ред. А. Н. Голикова, Г. В. Паршутина. – М.: Колос, 1980. – 480 с.

2.Боголюбова Н. В. Метаболический статус организма быков-производителей разных генотипов / Н. В. Боголюбова, Р. А. Рыков // Молочное и мясное скотоводство. 2020. – № 3. – С. 46-50. DOI 10.33943/MMS.2020.45.31.008.

3.Осидзе Д. Ф. Факторы резистентности организма животных / Д. Ф. Осидзе, А. П. Простяков // Ветеринария. 1983. – №3. – С. 33-34.

4.Плященко С. И. Повышение естественной резистентности организма животных – основа профилактики болезней / С. И. Плященко // Ветеринария. 1991. – №6. – С. 49-52.

5.Федоров Ю. Н. Иммунодефициты: диагностика и пути предотвращения / Ю. Н. Федоров // Ветеринария сельскохозяйственных животных. 2009. – №. 3. – С. 4-8.

6.Большакова А. Показатели крови и продуктивность / А. Большакова // Животноводство России. 2015. – №2. – С. 35-37.

7.Великанов В. И. Колостральный иммунитет и становление неспецифической резистентности у телят под влиянием иммуномодуляторов / В. И. Великанов, А. В. Кляпнев, Л. В. Харитонов, С. С. Терентьев. – Санкт-Петербург: Лань, 2021. – 160 с.

8.Покулевич В. А. Влияние препарата «Энрофлоксаветферок-Б» на бактерицидную и лизоцимную активность сыворотки крови и фагоцитарную активность нейтрофилов / В. А. Покулевич, А. В. Зайцева, Г. Э. Дремач, В. В. Зайцева // Ученые записки УО ВГАВМ. 2018. – Т. 54(3). – С. 30-36.

9.Venkataramanis S. Thermal stability of high concentration lysozyme across varying pH: A Fourier Transform Infrared study / S. Venkataramanis, J. Truntzer, D. Coleman // J. Pharm. Bioallied. Sci. 2013. – V.5. – №2. – P. 148-153. doi: 10.4103/0975-7406.111821.

10.Саруханов В. Я. Метод определения лизоцимной активности крови сельскохозяйственных животных / В. Я. Саруханов, Н. Н. Исамов, И. М. Колганов // Сельскохозяйственная биология. 2012. – №2. – С.119-122.

11.Гончарова А. И. Антимикробная активность лизоцима как фактор неспецифической резистентности / А. И. Гончарова, В. К. Окулич, В. Ю. Земко, С. А. Сель-

кович // Вестник ВГМУ. 2019. – Т.18. – №4. – С. 40-45. doi: https// doi.org/10.10.22263/2312-41-56.2019.4.40.
12.Gugushvili N.N. Dependence of the non-specific resistance in cows from their physiological and clinical state / N. N. Gugushvili // Bull. Exp. Biol. Med. 2003. – V. 136. – №6. – P. 548-550.
13. Баймишев М. Х. Показатели естественной резистентности организма высокопродуктивных коров / М. Х. Баймишев, С. П. Еремин, С. А. Баймишева // Инновационные достижения науки и техники АПК: сборник научных трудов Международной научно-практической конференции. Кинель, 2018. – С. 8–10
14.Чамый С. А. Гематологические показатели и естественная резистентность овец после коррекции препаратом «Седимин» в условиях техногенного загрязнения / С. А. Чамый // Природные ресурсы, среда и общество. 2021. –№1(9). – С. 68-74.DOI: 10.24412/2658-4441-2021-1-68-74.
15.Маренков В. Г. Влияние генотипа быков-производителей на параметры неспецифической резистентности потомства / В. Г. Маренков // Современные проблемы науки и образования. 2015. – №3. – С. 603.
16.Залюбовская Е. Ю. Влияние скармливания различных форм микроэлементов на рост, развитие и обмен веществ молодняка крупного рогатого скота / Е. Ю. Залюбовская, А. Н. Чубыш // Дальневосточный аграрный вестник. 2017. – № 4 (44). – С. 116-120.
17.Шкуратова И. А. Роль экологических факторов в развитии гуморального иммунодефицита у животных / И. А. Шкуратова, Н. А. Верещак, С. В. Малков // БИО. 2018. – №11. – С. 31-34.
18.Переселкова Д. А. Резистентность молочных коров в транзитный период лактации и пути ее повышение / Д. А. Переселкова, О. А. Артемьева, Ю. П. Фомичев, О. В. Павлюченкова. // Молочное и мясное скотоводство. 2015. – №3. – С. 8-10.

REFERENCES

1. Bazanova N. U. Fiziologiya sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh / N. U. Bazanova, A. N. Golikov, Z. K. Kozhebekov, M. F. Meshcheryakova, G. V. Parshutin, A. N. Safonov. Pod red. A. N. Golikova, G. V. Parshutina. M.: Kolos, 1980. 480 p. [in Russ.]
2.Bogolyubova N. V. Metabolicheskii status organizma bykov-proizvoditelei raznykh genotipov / N. V. Bogolyubova, R. A. Rykov // Molochnoe i myasnoe skotovodstvo. 2020. № 3. P. 46-50. DOI 10.33943/ MMS.2020.45.31.008. [in Russ.]
3.Osidze D. F. Faktory rezistentnosti organizma zhivotnykh / D. F. Osidze, A. P. Prostyakov // Veterinariya. 1983. №3. P. 33-34. [in Russ.]
4.Plyashchenko S. I. Povyshenie estestvennoi rezistentnosti organizma zhivotnykh – osnova profilaktiki boleznei / S. I. Plyashchenko // Veterinariya. 1991. №6. P. 49-52. [in Russ.]
5.Fedorov Yu. N. Immunodefitsity: diagnostika i puti predotvrashcheniya / Yu. N. Fedorov // Veterinariya sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh. 2009. №3. P. 4-8. [in Russ.]
6.Bol'shakova A. Pokazateli krovi i produktivnost' / A. Bol'shakova // Zhivotnovodstvo Rossii. 2015. №2. P. 35-37. [in Russ.]
7.Velikanov V. I. Kolostral'nyi immunitet i stanovlenie nespetsificheskoi rezistentnosti u telyat pod vliyaniem immunomodulyatorov / V. I. Velikanov, A. V. Klyapnev, L. V. Kharitonov, S. S. Terent'ev. Sankt-Peterburg: Lan', 2021. 160 p. [in Russ.]
8.Pokulevich V. A. Vliyanie preparata «Enroflokkavetferok-B» na bakteritsidnuyu i lizotsimnuyu aktivnost' syvorotki krovi i fagotsitarnuyu aktivnost' neitrofilov / V. A. Pokulevich, A. V. Zaitseva, G. E. Dremach, V. V. Zaitseva // Uchenye zapiski UO VGAVM. 2018. V.54(3). P. 30-36. [in Russ.]
9.Venkataramanis S. Thermal stability of high concentration lysozyme across varying pH: A Fourier Transform Infrared study / S. Venkataramanis, J. Truntzer, D. Coleman // J. Pharm. Bioallied. Sci. 2013. V.5. №2. P. 148-153. doi: 10.4103/0975-7406.111821.
10. Sarukhanov V. Ya. Metod opredeleniya lizotsimnoi aktivnosti krovi sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh / V. Ya. Sarukhanov, N. N. Isamov, I. M. Kolganov //

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya. 2012. №2. P. 119-122. [in Russ.]
11.Goncharova A. I. Antimikrobnaya aktivnost' lizotsima kak faktor nespetsificheskoi rezistentnosti / A. I. Goncharova, V. K. Okulich, V. Yu. Zemko, S. A. Sel'kovich // Vestnik VGMU. 2019. V.18. №4. P. 40-45. doi: https//doi.org/10.10.22263/2312-41-56.2019.4.40. [in Russ.]
12.Gugushvili N.N. Dependence of the non-specific resistance in cows from their physiological and clinical state / N. N. Gugushvili // Bull. Exp. Biol. Med. 2003. V. 136. №6. P. 548-550.
13.Baimishev M. Kh. Pokazateli estestvennoi rezistentnosti organizma vysokoproduktivnykh korov / M. Kh. Baimishev, S. P. Eremin, S. A. Baimisheva // Innovatsionnye dostizheniya nauki i tekhniki APK: sbornik nauchnykh trudov Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii. Kinel', 2018. P. 8–10. [in Russ.]
14.Chamyi S. A. Gematologicheskie pokazateli i estestvennaya rezistentnost' ovets posle korrektsii preparatom «Sedimin» v usloviyakh tekhnogennogo zagryazneniya / S. A. Chamyi // Prirodnye resursy, sreda i obshchestvo. 2021. №1(9). P. 68-74.DOI: 10.24412/2658-4441-2021-1-68-74. [in Russ.]
15. Marenkov V. G. Vliyanie genotipa bykov-proizvoditelei na parametry nespetsificheskoi rezistentnosti potomstva / V. G. Marenkov // Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. 2015. №3. P. 603. [in Russ.]
16.Zalyubovskaya E. Yu. Vliyanie skarmlivaniya razlichnykh form mikroelementov na rost, razvitie i obmen veshchestv molodnyaka krupnogo rogatogo skota / E. Yu. Zalyubovskaya, A. N. Chubysh // Dal'nevostochnyi agrarnyi vestnik. 2017. № 4 (44). P. 116-120. [in Russ.]
17.Shkuratova I. A. Rol' ekologicheskikh faktorov v razvitii gumoral'nogo immunodefitsita u zhivotnykh / I. A. Shkuratova, N. A. Vereshchak, S. V. Malkov // BIO. 2018. №11. P.31-34. [in Russ.]
18.Pereselkova D. A. Rezistentnost' molochnykh korov v tranzitnyi period laktatsii i puti ee povyshenie / D. A. Pereselkova, O. A. Artem'eva, Yu. P. Fomichev, O. V. Pavlyuchenkova // Molochnoe i myasnoe skotovodstvo. 2015. №3. P. 8-10. [in Russ.]

УДК: 577.175.44:636.1
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.287

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕФЕРЕНТНЫХ ИНТЕРВАЛОВ ДЛЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ И КОРТИЗОЛА У ЛОШАДЕЙ

Васильева С.В.* – канд. ветеринар. наук, доц. каф. биохимии и физиологии (ORCID 0000-0002-7324-6250); **Карпенко Л.Ю.** – д-р биол. наук, проф., зав. каф. биохимии и физиологии (ORCID 0000-0003-3005-0968).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*svvet@mail.ru

Ключевые слова: *лошади, эндокринная система, трийодтиронин, тироксин, кортизол, референтные интервалы.*

Key words: *horses, endocrine system, triiodothyronine, thyroxine, cortisol, reference intervals.*

Поступила: 18.02.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ В статье рассмотрены результаты вычисления референтных интервалов для показателей гормонов щитовидной железы и кортизола у взрослых лошадей. К исследованию были приняты результаты лабораторного исследования концентрации общего трийодтиронина, общего и свободного тироксина и кортизола от 50 лошадей в возрасте от 3 до 29 лет, среди которых было 17 кобыл, 13 жеребцов и 20 меринов. У всех животных был произведён расширенный биохимический анализ крови, по результатам которого не было выявлено патологических изменений. Для вычисления нормативных пределов колебаний по каждому гормону были проведены вычисления по методу Тьюки, который применяется для определения референтных границ в случае малого количества вариант в группе и отсутствия нормального распределения. Для вычисления был использован пакет Microsoft Excel. Проведённые исследования позволили уточнить референтные интервалы для тиреоидных гормонов и кортизола у лошадей, которые составили: общий трийодтиронин (T_3) – 1,13-4,04 нмоль/л, общий тироксин (T_4) – 20,97-57,42 нмоль/л, свободный тироксин (cT_4) 7,38-23,07 пмоль/л, кортизол – 39,42-227,02 нмоль/л. Полученные результаты можно рекомендовать к использованию не только для клинико-биохимической лаборатории СПбГУВМ, но и для всех ветеринарных лабораторий, использующих диагностические тест-системы для иммуноферментного анализа АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн».

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Среди всех возможных патологий эндокринной системы у лошадей в литературе наиболее часто упоминаются дисфункции щитовидной железы и гиперадренокортицизм [1, 2, 3, 4]. Как отмечают исследователи данного вопроса, к нарушению тиреоидного статуса предрасположены лошади старшего возраста, у которых патологический процесс протекает с развитием аутоиммунного тиреоидита, следствием которого является снижение гормоносекреции тироксина и трийодтиронина [5]. Сообщается также о трудностях в диагностике гипотиреоза ввиду возможного влияния различных факторов на гормоносекрецию, в первую очередь, приём некоторых лекарственных средств, а также изменение физиологического состояния может приводить к снижению концентрации тиреоидных гормонов без реальной патологии щитовидной железы [6]. Так, известно, что применение стероидных гормонов, а также финилбутазона приводит к снижению концентрации гормонов щитовидной железы в крови ввиду конкуренции с последними за сайты связывания. В связи с этим более информативно определение концентраций свободных тиреоидных гормонов (cT_3 и cT_4), а не общего пула T_3 и T_4, наибольший вклад в который вносят гормоны, связанные с белками. N. Frank с соавт. [3] отмечает, что нет данных о взаимосвязи между гипотиреозом у лошадей и количеством йода в рационе, хотя нельзя по мнению этих авторов, сбрасывать со счетов возможность дефицита йода на фоне зоба. По данным J. Beech [7] показаниями к исследованию тиреоидного статуса у взрослых лошадей являются вялость при отсутствии видимых причин, идиопатическая мышечная слабость, плохое качество шерсти, нарушение терморегуляции и агалактия у кобыл. Что касается диагностики гипотиреоза лошадей, то на сегодняшний день используются такие лабораторные методы, как определение базальных уровней гормонов, а также исследование антител к тиреоглобулину (АТ-ТГ), к тиреопероксидазе (АТ-ТПО) в сыворотке крови. Необходимо отметить, что ряд показателей можно исследовать тест-системами, предназначенными только для лошадей ввиду видоспецифичности белков (ТТГ, АТ-ТГ, АТ-ТПО). Для подтверждения гипотиреоза и для дифференциации его формы (первичной и вторичной) рекомендованы тесты со стимуляцией тиреотропин-рилизинг гормоном [1, 3]. Однако для использования в Российской Федерации на сегодняшний день нет доступных препаратов для постановки стимулирующих тестов.

Помимо гипотиреоза для пожилых лошадей нередкой патологией оказывается и гиперадренокортицизм. В основе заболевания лежит избыточная продукция адренокортикотропного гормона клетками промежуточной доли гипофиза, что приводит к увеличению выработки кортизола [8]. У лошадей, в отличие от собак, практически не встречается надпочечниковая форма болезни [9]. Более того, кроме избыточной секреции АКТГ у лошадей наблюдается повышение уровней проопиомеланокортина, бета-эндорфинов, альфа-меланоцитостимулирующего гормона [2, 4]. В зарубежной литературе данную патологию обозначают, как синдром Кушинга или дисфункция промежуточной доли гипофиза (Pituitary pars intermedia dysfunction (PPID)) [2, 9]. При развитии заболевания отмечается повышение аппетита на фоне потери массы тела, перераспределение жировых отложений, избыточный рост шерсти (гирсутизм), ламинит, псевдолактация [8]. Развитие полиурии и полидипсии ввиду блокирования секреции антидиуретического гормона для лошадей не свойственно, однако данный симптом может свидетельствовать о гипергликемии, развивающейся на фоне индуцированной кортизолом инсулинорезистентности [2]. J.A. Keen [10] сообщает о взаимосвязи гирсутизма с нарушением регуляции углеводного обмена, что сопровождается гипергликемией и повышением секреции инсулина. В любом случае, протекание болезни, развитие симптомов, а также подход к лечению синдро-

ма Кушинга у лошадей имеет свои специфические особенности в сравнении с другими видами животных, в частности с собаками, у которых гиперадренокортицизм детально изучен и описан во многих научных работах. Для уточнения диагноза лошадям с предполагаемым синдромом Кушинга исследуют базальный кортизол, а также проводят стимулирующий тест с АКТГ или тест с супрессией дексаметазоном [1, 8].

Таким образом, необходимость исследования сыворотки крови лошадей на содержание тиреоидных гормонов и кортизола продиктована встречаемостью у этого вида животных дисфункций щитовидной железы и синдрома Кушинга. На сегодняшний день накоплен определённый клинический опыт по выявлению и лечению лошадей с данными патологиями эндокринных желез. В то же время, в ветеринарных лабораториях исследования на гормоны довольно часто проводятся мелким домашним животным – преимущественно собакам и кошкам, и по этим видам животных имеется большой объём данных, в том числе по нормативным значениям по различным гормонам. Также много публикаций по исследованию уровня гормонов не только у мелких домашних, но и сельскохозяйственных животных [11, 12, 13, 14, 15]. Тогда как по лошадям в доступных источниках имеются немногочисленные и разрозненные данные.

Так, по данным Sojka J.E. et al. [16], у здоровых взрослых лошадей концентрация T_3 составляет 0,21-0,8 нг/мл (0,32-1,23 нмоль/л), общего тироксина – 6,2-25,1 нг/мл (7,98-32,3 нмоль/л). Kaneko J.J. [17] приводит нормативы содержания общего тироксина в виде диапазона значений 11,6-36,0 нмоль/л, а уровень трийодтиронина в виде среднего значения 0,85±0,52 нмоль/л. Tangyuenyong, S. с соавторами [6] указывают референсные концентрации общего тироксина у лошадей – 34,61±0,92 нг/мл (44,55±1,18 нмоль/л).

Российские исследователи, изучавшие концентрации гормонов щитовидной железы у лошадей в связи с применением органоминеральной кормовой добавки [18] приводят данные по содержанию T_3 – 8,0±2,1 и 1,1±0,22 нмоль/л, общего тироксина – 16,0±0,68 и 23,57±1,3 нмоль/л. Необходимо отметить, что нами не обнаружено данных по содержанию в крови свободного тироксина в доступной литературе зарубежной и отечественной литературе.

Что касается уровня кортизола у лошадей, то по данным Larsson, M. et al. [19] концентрации гормона у лошадей в течение суток подвергаются колебаниям в пределах 15-97 нг/мл (41,4-267,6 нмоль/л). По данным лаборатории VetUnion (https://vetunion.ru/lab/), нормативные значения уровня кортизола для лошадей составляют 71-240 нмоль/л.

В связи с дефицитом данных по нормативным показателям у лошадей, нами была поставлена задача установить референтные интервалы в отношении тиреоидных гормонов – общего трийодтиронина (T_3), общего тироксина (T_4), свободного тироксина (cT_4) и кортизола в сыворотке крови у лошадей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Для решения поставленной задачи нами была проведена статистическая обработка массива данных лабораторных исследований концентрации гормонов (T_3, T_4, cT_4 и кортизола) у 50 взрослых лошадей (от 3 до 29 лет), среди которых было 17 кобыл, 13 жеребцов и 20 меринов. Анамнестические данные животных не были известны, однако у этих же пациентов проводились расширенные биохимические исследования крови, по результатам которых не было выявлено патологических изменений.

Исследования концентрации гормонов были проведены в клинико-биохимической лаборатории СПбГУВМ методом иммуноферментного анализа с использованием тест-систем АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» (тиреоидные и стероидные гормоны не являются видоспецифичными) и микропланшетного фотометра вертикального сканирования

«Multiscan».

Исходя из того, что в нашем распоряжении имелась сравнительно небольшая выборка животных, для которой не подходит метод, предлагаемый Международной федерацией клинической химии (IFCC), так как в таком случае требуется вариационный ряд, состоящий, как минимум, из 120 значений, подчиняющихся нормальному распределению. Согласно методу IFCC референсный интервал по определённому показателю рассчитывается по формуле:

$$X_{ср.} = \pm 1{,}96 \times SD,$$

Где $X_{ср.}$ – среднегрупповое значение,

SD – стандартное отклонение.

В наших исследованиях был применён метод Тьюки, который подходит для определения референтных границ в случае малого количества вариант в группе и отсутствия нормального распределения [20, 21]. Для вычисления был использован пакет Microsoft Excel.

Из данной выборки у всех животных было проведено вычисление по каждому показателю согласно следующему алгоритму. Из общего массива данных удаляются выбросы путём подсчёта первого (Q_1) и третьего (Q_3) квартилей и расчёта межквартильного интервала (IQR). Затем вычисляют нижнюю (1) и верхнюю (2) границу Тьюки согласно формулам:

$$Q_1 - 1{,}5 \times IQR \quad (1)$$

$$Q_3 + 1{,}5 \times IQR \quad (2),$$

Далее, после удаления выбросов, выходящих за границы Тьюки, в оставшемся массиве данных вычисляют 2,5 и 97,5 процентили, значения которых и определяют референтный интервал.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты исследования представлены в таблицах 1-3.

Таблица 1 – Результаты исследования выборки по исследуемым показателям

Показатели	Среднее значение (M±m)	Границы вариационного ряда	
		Нижняя	Верхняя
Общий T_3 (нмоль/л)	2,72±0,18	0,95	6,58
Общий T_4 (нмоль/л)	41,83±2,67	18,21	101,7
Свободный T_4 (пмоль/л)	14,25±0,62	5,24	23,74
Кортизол (нмоль/л)	124,30±8,27	32,9	296,8

Таблица 2 – Результаты вычисления нижней и верхней границ Тьюки по исследуемым показателям

Показатели	Нижняя граница Тьюки	Верхняя граница Тьюки
Общий T_3 (нмоль/л)	-0,01	5,27
Общий T_4 (нмоль/л)	16,63	58,19
Свободный T_4 (пмоль/л)	1,55	27,34
Кортизол (нмоль/л)	-4,13	245,84

Таблица 3 – Значения 2,5 и 97,5 процентилей в выборке по исследуемым показателям

Значение процентиля в выборке	2,5‰	97,5‰
Общий T_3 (нмоль/л)	1,13	4,04
Общий T_4 (нмоль/л)	20,97	57,42
Свободный T_4 (пмоль/л)	7,38	23,07
Кортизол (нмоль/л)	39,42	227,02

Результаты, представленные в таблице 1 иллюстрируют схожесть средних значений общего тироксина с данными, представленными Tangyuenyong, S. с соавт. [6], тогда как у других исследователей концентрация гормона несколько ниже. Что касается уровня трийодтиронина, то у всех зарубежных исследователей приводятся более низкие уровни гормона. Верхние и нижние границы вариационного ряда по концентрации кортизола оказываются вполне сопоставимы с референтными интервалами, заявляемыми в различных источниках.

Как можно увидеть по результатам, представленным в табл. 2, нижние границы Тьюки оказались в отрицательной шкале по концентрации общего трийодтиронина и кортизола, и это означает, что при дальнейшем расчёте е нужно удалять «хвосты» в наименьших диапазонах значений. Полученные интервалы в рамках границ Тьюки позволили вычислить окончательные результаты, которые соответствуют значения 2,5 и 97,5 процентилей, которые и являются нижними и верхними значениями референтных интервалов (табл. 3).

Таким образом, в результате проведённых вычислений были установлены референтные значения по исследуемым гормонам, которые составили 1,13-4,04 нмоль/л (общий T_3), 20,97-57,42 нмоль/л (общий T_4), 7,38-23,07 пмоль/л (свободный T_4) и 39,42-227,02 нмоль/л (кортизол). При сравнении результатов (табл. 3) с литературными источниками можно отметить, что полученные нами данные вполне сопоставимы с нормативными пределами по уровню кортизола. Вычисленные в рамках данной работы референтные интервалы по общему тироксину у лошадей оказываются выше представленных другими исследователями [16, 17]. Однако среднегрупповое значение T_4, опубликованное в работе Tangyuenyong, S. с соавторами [6] составило 44,55±1,18 нмоль/л, что оказалось весьма близко к полученному результату в наших исследованиях – 41,83±2,67 нмоль/л. Что касается свободного тироксина, то в открытых источниках нами не было обнаружено сведений о референтных интервалах по его концентрации у лошадей, поэтому проведённая работа позволила расширить общедоступную базу данных по нормативным пределам cT_4 для практикующих врачей.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведённые исследования позволили уточнить референтные интервалы для тиреоидных гормонов и кортизола у лошадей, которые составили: общий трийодтиронин (Т3) – 1,13-4,04 нмоль/л, общий тироксин (Т4) – 20,97-57,42 нмоль/л, свободный тироксин (сТ4) 7,38-23,07 пмоль/л, кортизол – 39,42-227,02 нмоль/л. Полученные результаты можно рекомендовать к использованию не только для клинико-биохимической лаборатории СПбГУВМ, но и для всех лабораторий, использующих диагностические тест-системы для иммуноферментного анализа АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн». Перспектива данного исследования состоит в выявлении особенностей изменения нормативных границ в различные возрастные периоды, по признаку пола, а также у кобыл в связи с жерёбостью и лактацией. Однако для осуществления этой задачи необходим тщательный многолетний сбор данных.

CALCULATION OF REFERENCE INTERVALS FOR INDICATORS OF THYROID HORMONES AND CORTISOL IN HORSES

Vasileva S.V. * – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Biochemistry and Physiology (ORCID 0000-0002-7324-6250).**Karpenko L.Yu.** – Doctor of Biological Sciences, Prof., Head. department Biochemistry and Physiology (ORCID 0000-0003-3005-0968).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*svvet@mail.ru

ABSTRACT

The article discusses the results of calculating reference intervals for thyroid hor-

mones and cortisol in adult horses. The study included the results of a laboratory study of the concentrations of total triiodothyronine, total and free thyroxine and cortisol from 50 horses aged 3 to 29 years, including 17 mares, 13 stallions and 20 geldings. All animals underwent an extensive biochemical blood test, the results of which revealed no pathological changes.

To calculate the normative limits of fluctuations for each hormone, calculations were carried out using the Tukey method, which is used to determine the reference limits in the case of a small number of variants in the group and the absence of a normal distribution. Microsoft Excel was used for calculations. The conducted studies made it possible to clarify the reference intervals for thyroid hormones and cortisol in horses, which were: total triiodothyronine (T3) - 1.13-4.04 nmol/l, total thyroxine (T4) - 20.97-57.42 nmol/l , free thyroxine (fT4) 7.38-23.07 pmol/l, cortisol – 39.42-227.02 nmol/l. The results obtained can be recommended for use not only for the clinical and biochemical laboratory of St. Petersburg State University of Medicine, but also for all veterinary laboratories using diagnostic test systems for enzyme immunoassay of Vital Development Corporation.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Equine Clinical Pathology / Edited by Raquel M. Walton. – John Wiley & Sons, 2013. – 296 p.

2.Fey, K. Equine Cushing syndrome (ECS). Case report, review of its diagnosis and therapy and substantial differences from Cushing syndrome in dogs / K. Fey, E. Jonigkeit, A. Moritz // Tierarztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere / Nutztiere. –1998. – Vol. 26, №1. – P. 41-47.

3.Frank, N. Equine thyroid dysfunction / N. Frank, J. Sojka, N. T. Messer // The Veterinary clinics of North America. Equine practice. – 2002. – Vol. 18, №2. – P.305-319, vii. doi:10.1016/s0749-0739(02)00007-x

4.Love, S. Equine Cushing's disease / S. Love // The British veterinary journal. – 1993. – Vol. 149, №2. – P. 139-153. doi:10.1016/S0007-1935(05)80084-3

5.Breuhaus, B. A. Disorders of the equine thyroid gland / B. A. Breuhaus, // The Veterinary clinics of North America. Equine practice. –2011. – Vol. 27, №1. – P. 115-128. doi:10.1016/j.cveq.2010.12.002

6.Tangyuenyong, S. Sensitive radioimmunoassay of total thyroxine (T4) in horses using a simple extraction method / S. Tangyuenyong, Ya. Nambo, K. Nagaoka [et al.] // Journal of Veterinary Medical Science. – 2017. – Vol. 79, № 7. – P. 1294-1300.

7.Beech, J. Evaluation of Thyroid, Adrenal, and Pituitary Function / J. Beech // Veterinanj Clinics of North America: Equine Practice. – 1987. –Vol. 3, No 3. – P. 649-660.

8.McCue, Patrick M. Equine Cushing's disease / Patrick M. McCue // The Veterinary clinics of North America. Equine practice. – 2002. – Vol. 18, №3. – P. 533-543, viii. doi:10.1016/s0749-0739(02)00038-x

9.Rendle, D. I. Investigation of single and paired measurements of adrenocorticotropic hormone for the diagnosis of pituitary pars intermedia dysfunction in horses / D. I. Rendle, M. Duz, J. Beech, T. Parkin, A. E. Durham // Journal of veterinary internal medicine. – 2015. – Vol. 29, №1. – P. 355-361. doi:10.1111/jvim.12489

10.Keen, J. A. Biochemical indices of vascular function, glucose metabolism and oxidative stress in horses with equine Cushing's disease / J. A. Keen, M McLaren, K J Chandler, B C McGorum // Equine veterinary journal. –2004. – Vol. 36, №3. – P. 226-229. doi:10.2746/0425164044877215

11.Васильева, С. В. Изучение концентрации тироксина и кортизола у коров с жировым гепатозом в транзитный период / С. В. Васильева, Л. Ю. Карпенко // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2019. – № 3. – С. 202 -204. – DOI 10.17238/issn2072-6023.2019.3.202.

12.Васильева, С. В. Изучение тиреоидного статуса у новотельных коров при нарушении функции печени / С. В. Васильева, Л. Ю. Карпенко // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2021. – № 4. – С. 137-140. – DOI 10.52419/issn2072-6023.2021.4.137. 13. Стекольников, А. А. Анализ основных

статистических параметров при изучении динамики тиреоидных гормонов у коров продуктивного стада / А. А. Стекольников, С. В. Васильева, М. А. Ладанова // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2015. – № 3. – С. 238-240.
14. The effect of Mepron®, lipoic acid and L -carnitine on thyroid function in cows during the transit period / S. Vasileva, L. Karpenko, R. Vasilev [et al.] // Reproduction in Domestic Animals. – 2019. – Vol. 54, No. S3. – P. 97.
15. Study of metabolic processes in cows with hyperbilirubinemia in the postpartum period / A. Nikitina, S. Vasileva, R. Vasilev [et al.] // FASEB Journal. – 2022. – Vol. 36, No. S1. – P. 3431. – DOI 10.1096/ fasebj.2022.36.S1.R3431.
16. Sojka, J.E. Serum triiodothyronine, total thyroxine, and free thyroxine concentrations in horses / J.E. Sojka, M.A. Johnson, G.D. Bottoms // Am J Vet Res. –1993. – Vol. 54, №1. – P. 52-55.
17. Kaneko J.J. Clinical biochemistry of domestic animals / J.J. Kaneko, J.W. Harvey, M.L. Bruss – 6-th ed. 2008/ - 916 p.
18. Карпенко, Л. Ю. Динамика содержания тиреоидных гормонов в сыворотке крови лошадей в связи с обеспеченностью организма йодом и селеном / Л. Ю. Карпенко, Р. Н. Селимов, А. А. Бахта // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2010. – Т. 203. – С. 118-122.
19. Larsson, M. Plasma cortisol in the horse, diurnal rhythm and effects of exogenous acth / M. Larsson, LE. Edqvist, L. Ekman, et al. // Acta Vet Scand. – 1979. – Vol. 20, P.16 –24.
20. Katayev, A. Establishing reference intervals for clinical laboratory test results. Is there a better way? / A. Katayev [et al.] // Am. J. Clin. Pathol. – 2010 – № 133 – P. 180–186.
21. Архипкин, А. А. Методика расчета референтных интервалов лабораторных показателей на примере фетальных белков / А. А. Архипкин, О. В. Лянг, А. Г. Кочетов // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2014. – № 3(47). – С. 23-25.

REFERENCES

1. Equine Clinical Pathology / Edited by Raquel M. Walton. – John Wiley & Sons, 2013. – 296 p.
2. Fey, K. Equine Cushing syndrome (ECS). Case report, review of its diagnosis and therapy and substantial differences from Cushing syndrome in dogs / K. Fey, E. Jonigkeit, A. Moritz // Tierarztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere / Nutztiere. –1998. – Vol. 26, №1. – P. 41-47.
3. Frank, N. Equine thyroid dysfunction / N. Frank, J. Sojka, N. T. Messer // The Veterinary clinics of North America. Equine practice. – 2002. – Vol. 18, №2. – P.305-319, vii. doi:10.1016/s0749-0739(02)00007-x
4. Love, S. Equine Cushing's disease / S. Love // The British veterinary journal. – 1993. – Vol. 149, №2. – P. 139-153. doi:10.1016/S0007-1935(05)80084-3
5. Breuhaus, B. A. Disorders of the equine thyroid gland / B. A. Breuhaus, // The Veterinary clinics of North America. Equine practice. –2011. – Vol. 27, №1. – P. 115-128. doi:10.1016/j.cveq.2010.12.002
6. Tangyuenyong, S. Sensitive radioimmunoassay of total thyroxine (T4) in horses using a simple extraction method / S. Tangyuenyong, Ya. Nambo, K. Nagaoka [et al.] // Journal of Veterinary Medical Science. – 2017. – Vol. 79, № 7. – P. 1294-1300.
7. Beech, J. Evaluation of Thyroid, Adrenal, and Pituitary Function / J. Beech // Veterinanj Clinics of North America: Equine Practice. – 1987. –Vol. 3, No 3. – P. 649-660.
8. McCue, Patrick M. Equine Cushing's disease / Patrick M. McCue // The Veterinary clinics of North America. Equine practice. – 2002. – Vol. 18, №3. – P. 533-543, viii. doi:10.1016/s0749-0739(02)00038-x
9. Rendle, D. I. Investigation of single and paired measurements of adrenocorticotropic hormone for the diagnosis of pituitary pars intermedia dysfunction in horses / D. I. Rendle, M. Duz, J. Beech, T. Parkin, A. E. Durham // Journal of veterinary internal medicine. – 2015. – Vol. 29, №1. – P. 355-361. doi:10.1111/jvim.12489

10.Keen, J. A. Biochemical indices of vascular function, glucose metabolism and oxidative stress in horses with equine Cushing's disease / J. A. Keen, M McLaren, K J Chandler, B C McGorum // Equine veterinary journal. –2004. – Vol. 36, №3. – P. 226-229. doi:10.2746/0425164044877215
11.Vasilyeva, S.V. Study of the concentration of thyroxine and cortisol in cows with fatty hepatosis during the transit period / S.V. Vasilyeva, L.Yu. Karpenko // Issues of legal regulation in veterinary medicine. – 2019. – No. 3. – P. 202-204. – DOI 10.17238/issn2072-6023.2019.3.202. 12.Vasilyeva, S.V. Study of thyroid status in fresh cows with liver dysfunction / S.V. Vasilyeva, L.Yu. Karpenko // Issues of legal regulation in veterinary medicine. – 2021. – No. 4. – P. 137-140. – DOI 10.52419/issn2072-6023.2021.4.137.
13.Stekolnikov, A. A. Analysis of the main statistical parameters when studying the dynamics of thyroid hormones in cows of a productive herd / A. A. Stekolnikov, S. V. Vasilyeva, M. A. Ladanova // Issues of legal regulation in veterinary medicine. – 2015. – No. 3. – P. 238-240.
14.The effect of Mepron®, lipoic acid and L -carnitine on thyroid function in cows during the transit period / S. Vasileva, L. Karpenko, R. Vasilev [et al.] // Reproduction in Domestic Animals. – 2019. – Vol. 54, No. S3. – P. 97.
15.Study of metabolic processes in cows with hyperbilirubinemia in the postpartum period / A. Nikitina, S. Vasileva, R. Vasilev [et al.] // FASEB Journal. – 2022. – Vol. 36, No. S1. – P. 3431. – DOI 10.1096/fasebj.2022.36.S1.R3431. – EDN VDGVPC.
16.Sojka, J.E. Serum triiodothyronine, total thyroxine, and free thyroxine concentrations in horses / J.E. Sojka, M.A. Johnson, G.D. Bottoms // Am J Vet Res. –1993. – Vol. 54, №1. – P. 52-55.
17.Kaneko J.J. Clinical biochemistry of domestic animals / J.J. Kaneko, J.W. Harvey, M.L. Bruss – 6-th ed. 2008/ - 916 p.
18.Karpenko, L. Yu. Dynamics of the content of thyroid hormones in the blood serum of horses in connection with the body's supply of iodine and selenium / L. Yu. Karpenko, R. N. Selimov, A. A. Bakhta // Scientific notes of the Kazan State Veterinary Academy medicine named after N.E. Bauman. – 2010. – T. 203. – P. 118-122. 19.Larsson, M. Plasma cortisol in the horse, diurnal rhythm and effects of exogenous acth / M. Larsson, LE. Edqvist, L. Ekman, et al. // Acta Vet Scand. – 1979. – Vol. 20, P.16–24.
20.Katayev, A. Establishing reference intervals for clinical laboratory test results. Is there a better way? / A. Katayev [et al.] // Am. J. Clin. Pathol. – 2010 – № 133 – P. 180–186.
21.Arkhipkin, A. A. Methodology for calculating reference intervals of laboratory parameters using the example of fetal proteins / A. A. Arkhipkin, O. V. Lyang, A. G. Kochetov // Bulletin of the Russian Military Medical Academy. – 2014. – No. 3(47). – pp. 23-25.

УДК: 591.471.4: 636.7+636.1+636.32/.38
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.295

СКЕЛЕТОТОПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОДБОРОДОЧНОГО ОТВЕРСТИЯ У ЖИВОТНЫХ

Иванцов В.А. * – канд. биол. наук, доц. каф. анатомии и гистологии животных им. профессора А.Ф. Климова; **Кораблева Д.Д**. – обучающийся 4 курса факультета ветеринарной медицины; **Скворцова А.А.** – аспирант кафедры ветеринарной хирургии.
ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА им. К.И. Скрябина

* ivancov@mgavm.ru

Ключевые слова: овца, лошадь, собака, нижняя челюсть, подбородочное отверстие, индекс относительной высоты
Key words: sheep, horse, dog, mandible, mental foramen, relative height index

Поступила: 29.02.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ
В статье представлены особенности в скелетотопии подбородочного отверстия у различных видов животных (овца, лошадь, собака). Исследования проводились на базе кафедры анатомии и гистологии животных имени профессора А.Ф. Климова ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина. Объектом исследования являлись: половозрелые овца (Ovis aries) (n=10), лошадь домашняя (Equus caballus) (n=10) и собака (Canis lupus familiaris) (n=10). Материалом для исследования служили нижние челюсти (n=30). Применяли комплексный методический подход, включающий анатомическое препарирование и измерение линейных показателей (высота тела нижней челюсти и расстояние от подбородочного отверстия до верхнего края диастемы) с последующей цифровой обработкой полученных данных. На основании проведенных исследований выявлены видовые закономерности и особенности анатомической организации подбородочного отверстия у различных таксономических групп. При анализе полученных линейных показателей был рассчитан индекс относительной высоты подбородочного отверстия, который является процентном отношением расстоянием от подбородочного отверстия до верхнего края диастемы к высоте тела нижней челюсти, по которому установлено, что по своими цифровым выражениям лидировала собака (69), в то время как у овцы (36) были минимальные цифровые значения. Лошадь (51) занимала промежуточное положение по изучаемому индексу. Полученные результаты могут быть использованы при разработке новых методов экстирпации зубов, при выполнении местного обезболивания тройничного нерва в ветеринарной стоматологии, а также при идентификации вида животного по скелету головы.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Изучение закономерностей и видовых особенностей скелета головы у животных с различным типом приема пищи до настоящего времени остается одной из актуальных проблем сравнительной анатомии животных. Несмотря на имеющиеся сообщения по данной проблематике, многие аспекты этой проблемы изучены не в полной мере. Так, не освещены особенности структурной организации отверстий образующих каналы челюстей у животных различных видов [1-8]. Не полная изученность данного аспекта не может гарантировать качественного проведения местной анестезии при операциях на органах ротовой полости, а также при видовой идентификации животных по костному остову. Исходя из вышеизложенного, **цель** данного исследования – установить особенности в скелетотопии подбородочного отверстия у различных видов животных (овца, лошадь, собака) [8-11].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводились на базе кафедры анатомии и гистологии животных имени профессора А.Ф. Климова ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина Объектом исследования являлись: овца *(Ovis aries)* (n=10) в возрасте от 1 до 3 лет, лошадь домашняя *(Equus caballus)* (n=10) в возрасте от 3 до 10 лет и собака с мезацефалической формой головы (*Canis lupus familiaris)* (n=10) в возрасте от 2 до 7 лет. Материалом для исследования служили скелетированные нижние челюсти.

Использовали комплекс методов, включающий: анатомическое парирование и макроморфометрию с определением следующих линейных параметров (рис. 1): высоту тела нижней челюсти и расстояние от подбородочного отверстия до верхнего края диастемы с дальнейшим расчетом индекса относительной высоты подбородочного отверстия. Статистическую обработку полученных данных проводили по общепринятым методикам [12-14].

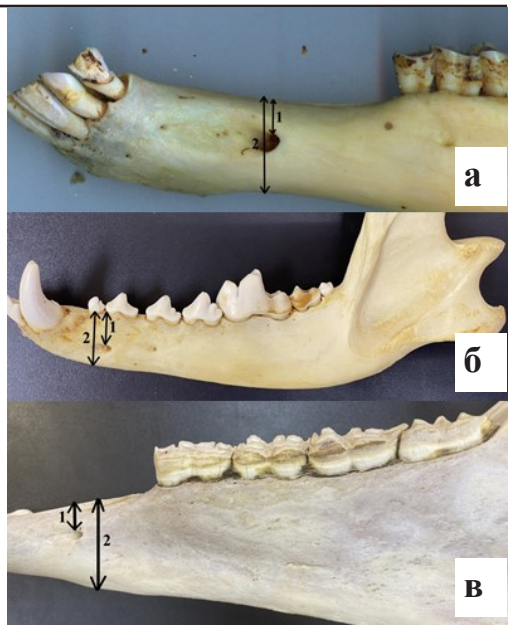


Рисунок 1 – Скелетотопические ориентиры нижней челюсти у половозрелой: а – собаки (5 лет); б – овца (1,5 года); в – лошадь (3 года). Макропрепарат: 1 – расстояние от подбородочного отверстия до верхнего края диастемы; 2 – высота тела нижней челюсти.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Подбородочное отверстие является анатомической структурой, участвующей в образование нижнечелюстного канала и важным топографическим ориентиром при видовой идентификации животного по костному остову и выполнении проводниковой анестезии фронтальной группы зубов [2, 4, 9, 10].

Анализ полученных линейных морфометрических показателей положения подбородочного отверстия у изученных нами животных (таблица 1) показал, что лошадь лидировала по своим цифровым показателям, в то время как овца имела минимальные значения. Представитель Canis lupus familiaris занимал промежуточное положение.

На основании полученных линейных показателей был рассчитан индекс относительной высоты подбородочного отверстия (таблица 2, рис. 2), который является

Таблица 1 – Скелетотопические ориентиры подбородочного отверстия у половозрелых животных, мм

Параметры	Овца		Лошадь		Собака	
	П	Л	П	Л	П	Л
Расстояние от подбородочного отверстия до верхнего края	4,9±0,3	5,1±0,3	23,9±0,8	24,3+0,6	12,3+0,5	12,0+0,6
Высота тела нижней челюсти	13,9±0,4	13,9±0,6	47,2±2,6	46,9±2,3	17,8±0,7	17,7±0,7

Различия между сравниваемыми величинами достоверны (P≤0,05)
Примечание: - здесь и далее П – правая половина нижней челюсти; Л – левая половина нижней

Таблица 2 – Индекс относительной высоты подбородочного отверстия у половозрелых животных

Овца		Лошадь		Собака	
П	Л	П	Л	П	Л
35,3	36,7	50,6	51,8	69,1	68,8

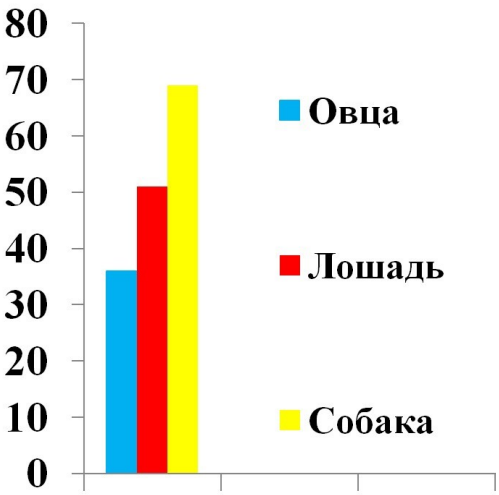


Рисунок 2 – Средний индекс относительной высоты подбородочного отверстия у половозрелых животных

процентном отношением расстоянием от подбородочного отверстия до верхнего края диастемы к высоте тела нижней челюсти.

При анализе изучаемой интегральной величины, установлено, что по своим цифровым выражениям лидировала собака, лошадь занимала промежуточное положение, в то время как у овцы были минимальные цифровые значения.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Установлены видовые особенности и закономерности анатомической организации подбородочного отверстия у различных таксономических групп. Полученные результаты могут быть использованы при разработке новых методов экстирпации зубов, при выполнении местного обезболивании тройничного нерва в ветеринарной стоматологии, а также при идентификации вида животного по скелету головы.

SKELETOTOPIC FEATURES OF THE MENTAL FORAMEN OF ANIMALS

Ivantsov V.A. * – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Anatomy and Histology of Animals named after Prof. A.F. Klimova; **Korableva D.D.** – 4th year student of the Faculty of Veterinary Medicine; **Skvortsova A.A.** – PhD student of the Department of Veterinary Surgery.

Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA by K. I. Skryabin

* ivancov@mgavm.ru

ABSTRACT

The article presents the features in the skeletotopia of the mental foramen in different animal species (sheep, horse, dog). The research was conducted at the Department of Anatomy and Histology of Animals named after Prof. A.F. Klimov of the K.I. Skryabin Moscow State Automobile Academy of Veterinary Medicine and Biology. The object of the study was: sexually mature sheep (Ovis aries) (n=10), domestic horse (Equus caballus) (n=10) and dog (Canis lupus familiaris) (n=10). The material for the research was mandibles (n=30). A comprehensive methodological approach was used, including anatomical preparation and measurement of linear parameters (height of the mandibular body and distance from the chin aperture to the upper edge of the diastema) with subsequent digital processing of the results. Based on these studies, species regularities and peculiarities of anatomical organization of the mental foramen in different taxonomic groups were revealed. At the analysis of the received linear parameters the index of relative height of a chin aperture was calculated, which is a percentage relation of distance from a chin aperture to the top edge of diastema to height of a body of a mandible on which it is established, that on the digital expressions the dog (69) was in the lead, while the sheep (36) had the minimum digital values. Horse (51) occupied an intermediate position according to the studied index. The results obtained can be used in the development of new methods of tooth extirpation, in the performance of local anesthesia of the trigeminal nerve in veterinary dentistry, as well as in the identification of the animal species by the head skeleton.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Ветеринарная стоматология / Н. А. Слесаренко, А. В. Красников, В. А. Иванцов [и др.]. - 2-е изд., стер. - Санкт-Петербург: Лань, 2023. - 132 с.

2.Иванцов, В. А. Анатомо-топографическая характеристика канало-образующих отверстий нижней челюсти у домашних животных / В. А. Иванцов, Д. Д. Кораблева // Ветеринарная морфология и патология. – 2023. –№ 2. – С. 51-57.

3.Иванцов, В. А. Анатомо-топографическое обоснование мандибулярной анестезии у овец / В. А. Иванцов, Н. А. Слесаренко // Международный вестник ветеринарии. – 2023. – № 2. – С. 230-235.

4.Анатомия верхнечелюстной кости рыси евразийской / Д. С. Былинская, М. В. Щипакин, Н. В. Зеленевский, Д. В. Васильев // Аграрное образование и наука - в развитии животноводства : Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию заслуженного работника сельского хозяйства РФ, почетного работника ВПО РФ, лауреата государственной премии УР, ректора ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА, доктора сельскохозяйственных наук, профессора Любимова Александра Ивановича. В 2-х томах., Ижевск, 20 июля 2020 года. Том I. – Ижевск: Ижевская государственная сельскохозяйственная академия, 2020. – С. 260-262.

5.Лицевой череп бобра речного (Castor fiber) / Д. С. Былинская, М. В. Щипакин, А. В. Прусаков [и др.] // Иппология и ветеринария. – 2015. – № 3(17). – С. 30-34.

6.Морфологические особенности строения черепа выдры речной (Lutra Lutra) / С. В. Вирунен, М. В. Щипакин, Н. В. Зеленевский [и др.] // Иппология и ветеринария. – 2017. – № 2(24). – С. 30-33.

7.Анатомия лошади: учебник / А. А. Стекольников, Ф. И. Василевич, Н. В. Зеленевский [и др.]. – Санкт-Петербург: Проспект Науки, 2018. – 592 с. – ISBN 978-5-906109-78-1.

8.Теленков, В. Н. Сравнительная анатомия костей скелета головы косули сибирской и овцы домашней / В. Н. Теленков, М. В. Маркова, Э. В. Баданова // Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства. – 2015. – Т. 1. – № 8. –

С. 532-535.
9.Иванцов, В. А. Анатомо-топографическое обоснование мандибулярной анестезии у животных различных таксономических групп / В. А. Иванцов, Д. Д. Кораблева // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2023. – № 11. – С. 6-12.
10.Корневен. Ш. Распознавание возраста по зубам и производным эпителия: Лошади, коровы, собаки… / Ш. Корневен, Ф.-К. Лесбр. - 3-е изд. - М.: Книжный дом «Либроком», 2011. – 256 с.
11.Слесаренко, Н. А. Рентгеноанатомические параллели в структурном оформлении костных челюстных каналов у овец / Слесаренко Н. А., Иванцов В. А. // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2023. – № 4. – С. 52-58.
12.The Lower Jawbone of Mehraban Sheep: A Descriptive Morphometric Approach / I. Karimi et al. // World's Vet. J. - № 2(4). - P. 57-60.
13.Rawlinson J.E. Anatomic analysis of the equine mental foramen and rostral mandibular canal using computed tomography / J.E. Rawlinson, L. Bass, L. Campoy, A. Broman, B. Prytherch // Veterinary Anaesthesia and Analgesia. – 2018. - № 3. - doi: 10.1016/ j.vaa.2018.01.002.
14.Методология научного исследования / Н. А. Слесаренко и [др.]; под ред. Н. А. Слесаренко. - СПб.: Лань, 2017. – 268 с.

REFERENCES

1. Veterinary dentistry / N. A. Slesarenko, A.V. Krasnikov, V. A. Ivantsov [et al.]. - 2nd ed., ster. - St. Petersburg: Lan, 2023. - 132 p.
2. Ivantsov, V. A. Anatomical and topographic characteristics of the channel-forming openings of the mandible in domestic animals / V. A. Ivantsov, D. D. Korableva // Veterinary morphology and pathology. - 2023. –No. 2. – pp. 51-57.
3. Ivantsov, V. A. Anatomical and topographic justification of mandibular anesthesia in sheep / V. A. Ivantsov, N. A. Slesarenko // International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2023. – No. 2. – pp. 230-235.
4. Anatomy of the maxillary bone of the Eurasian lynx / D. S. Bylinskaya, M. V. Shchipakin, N. V. Zelenevsky, D. V. Vasiliev // Agrarian education and science - in the development of animal husbandry : Materials of the International scientific and practical conference dedicated to the 70th anniversary of the Honored Worker of agriculture of the Russian Federation, honorary worker of the Higher Educational Institution of the Russian Federation, laureate of the state prize UR, Rector of the Izhevsk State Agricultural Academy, Doctor of Agricultural Sciences, Professor Alexander Ivanovich Lyubimov. In 2 volumes., Izhevsk, July 20, 2020. Volume I. Izhevsk: Izhevsk State Agricultural Academy, 2020. – Pp. 260-262.
5. The facial skull of a river beaver (Castor fiber) / D. S. Bylinskaya, M. V. Shchipakin, A.V. Prusakov [et al.] // Hippology and veterinary medicine. – 2015. – № 3(17). – Pp. 30-34.
6. Morphological features of the skull structure of the river otter (Lutra Lutra) / S. V. Virunen, M. V. Shchipakin, N. V. Zelenevsky [et al.] // Hippology and veterinary medicine. – 2017. – № 2(24). – Pp. 30-33.
7. Anatomy of a horse: textbook / A. A. Stekolnikov, F. I. Vasilevich, N. V. Zelenevsky [et al.]. – St. Petersburg: Prospect Nauki, 2018. – 592 p. – ISBN 978-5-906109-78-1.
8. Telenkov, V. N. Comparative anatomy of bones of the skeleton of the head of Siberian roe deer and domestic sheep / V. N. Telenkov, M. V. Markova, E. V. Badanova // Collection of scientific papers of the All-Russian Scientific Research Institute of Sheep and Goat breeding. - 2015. – Vol. 1. – No. 8. – pp. 532-535.
9. Ivantsov, V. A. Anatomical and topographic substantiation of mandibular anesthesia in animals of various taxonomic groups / V. A. Ivantsov, D. D. Korableva // Veterinary medicine, animal science and biotechnology. – 2023. – No. 11. – pp. 6-12.
10. Korneven. Sh. Age recognition by teeth and epithelial derivatives: Horses, cows, dogs ... / Sh. Korneven, F.-K. Lesbr. - 3rd ed. - M.: Book house "Librocom", 2011. – 256 p.
11. Slesarenko, N. A. X-ray anatomical parallels in the structural design of bone jaw

canals in sheep / Slesarenko N. A., Ivantsov V. A. // Veterinary medicine, zootechny and biotechnology. – 2023. – No. 4. – pp. 52-58.
12. The Lower Jawbone of Mehraban Sheep: A Descriptive Morphometric Approach / I. Karimi et al. // World's Vet. J. - № 2(4). - P. 57-60.
13.Rawlinson J.E. Anatomic analysis of the equine mental foramen and rostral mandibular canal using computed tomography / J.E. Rawlinson, L. Bass, L. Campoy, A. Broman, B. Prytherch // Veterinary Anaesthesia and Analgesia. – 2018. - № 3. - doi: 10.1016/j.vaa.2018.01.002.
14. Methodology of scientific research / H. A. Slesarenko and [others]; edited by H. A. Slesarenko. - St. Petersburg: Lan, 2017. – 268 p.

УДК: 611.727.5:616.72-002-031.13:636.8
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.301

АНАТОМО-ТОПОГРАФИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ БИОПСИИ ВНУТРИСУСТАВНЫХ СТРУКТУР ПРИ ИНФЕКЦИОННОМ ПОЛИАРТРИТЕ КОШЕК

Рыбалкин, С.М.[1] – вет. врач, зав. отделения хирургии (ORCID 0009-0001-5824-0547); **Щипакин, М.В.**[2] **–** д-р ветеринар. наук, проф., зав. кафедрой анатомии животных (ORCID 0000-0002-2960-3222); **Мельников, С.И.**[2] – канд. ветеринар. наук, ассистент кафедры анатомии животных (ORCID 0000-0002-0963-8751).

[1]Сеть ветеринарных центров «Котонай»
[2]ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*m.shchipakin@yandex.ru

Ключевые слова: *биоптат, кошка, полиартрит, доступ, капсула, сустав.*
Key words: *biopsy, cat, polyarthritis, access, capsule, joint.*

Поступила: 15.01.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

В настоящее время инфекционный полиартрит у кошек является очень актуальной проблемой в ветеринарной медицине. Во всем мире одной из самой распространенных причин эвтаназии кошек является полиартрит невыясненной этиологии, не поддающийся эмпирическому и симптоматическому лечению. Сложность диагностики полиартрита у кошек заключается в большом количестве инфекционных агентов, способных проникать в ткани суставов с током крови и лимфы, при этом не во всех регионах мира доступна полноценная диагностика этих заболеваний. Вторая причина, осложняющая диагностику полиартрита у кошек – это отсутствие инфекционных агентов в синовиальной жидкости при ее исследовании различными методиками, такими как ПЦР, бактериологический посев, ИФА диагностика. Цель исследования – рассмотреть открытый метод биопсии внутрисуставных структур у кошек при инфекционном полиартрите и выявить наиболее безопасные места отбора материала для пациентов с анатомо-топографическим обоснованием. Исследование было проведено в Сети ветеринарных центров «Котонай» и на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Объектом исследования послужили кошки в количестве шести особей. Средний возраст пациентов составил от 3 месяцев до 9 лет. Тяжелых постоперационных осложнений, требующих повторного лечения у исследуемых пациентов, не наблюдалось. Клинический результат в данных случаях можно назвать положительным, несмотря на наличие незначительных осложнений в раннем послеоперационном периоде. Диагноз у большинства пациентов был установлен на основании исследования биоптатов суставной капсулы и суставного хряща. Для забора материала у кошек с полиартритом и измененной анатомией в области суставов – наиболее безопасной локализацией являются краниолатеральный доступ к лучезапястному суставу, каудолатеральный доступ к скакательному суставу и краниальный доступ к скакательному суставу.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В настоящее время инфекционный полиартрит у кошек является очень актуальной проблемой в ветеринарной медицине. Во всем мире одной из самой распространенных причин эвтаназии кошек является полиартрит невыясненной этиологии, не поддающийся эмпирическому и симптоматическому лечению. Сложность диагностики полиартрита у кошек заключается в большом количестве инфекционных агентов, способных проникать в ткани суставов с током крови и лимфы, при этом не во всех регионах мира доступна полноценная диагностика этих заболеваний. Вторая причина, осложняющая диагностику полиартрита у кошек – это отсутствие инфекционных агентов в синовиальной жидкости при ее исследовании различными методиками, такими как ПЦР, бактериологический посев, ИФА диагностика. Исходя из данных исследований последних лет, причина инфекционного полиартрита у кошек не выявляется примерно в 80% случаев, что может привести к неправильной интерпретации исследований врачом-клиницистом и назначению лечения, которое усугубит состояние животного, вплоть до летального исхода [1-6]. Синовиальная жидкость, за счет своих специфических свойств, может не содержать инфекционных агентов, соответственно они не будут обнаружены в проведенных исследованиях, однако клиническая оценка пациента будет говорить о противоположном. По данным исследований инфекционного полиартрита у кошек рекомендовано выполнять забор биоптатов внутрисуставных структур и капсулы сустава открытым способом, однако четких критериев размера и расположения биоптатов для забора не описано. Цель исследования – рассмотреть открытый метод биопсии внутрисуставных структур у кошек при инфекционном полиартрите и выявить наиболее безопасные места отбора материала для пациентов с анатомо-топографическим обоснованием [6-9].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование было проведено в Сети ветеринарных центров «Котонай» и на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Объектом исследования послужили кошки в количестве шести особей. Средний возраст пациентов составил от 3 месяцев до 9 лет. В исследовании участвовали четыре кастрированные самки и два кастрированных самца. Средний вес на момент исследования составлял от 0,8 до 4,5 кг. Основные жалобы при обращении: перемежающаяся хромота, хромота опорного типа 2 и 3 степеней, имела постоянный характер, выраженно увеличенные в размере суставы грудных и тазовых конечностей, снижение активности в течение нескольких дней до обращения, вынужденное лежачее положение. Питание – промышленный сбалансированный рацион, который включал в себя корм для котят, а для животных старше 1 года промышленный корм для взрослых кошек. Вакцинальный статус – вакцинированы. Ранее перенесенные оперативные вмешательства – кастрация. В процессе сбора анамнеза жизни исключено наличие хронических болезней, аллергий и инфекционных заболеваний. Первичное обследование животного включало в себя: сбор анамнеза жизни и болезни, общий клинический осмотр, термометрия, нейроортопедический осмотр, аускультацию сердца и легких, рентгенологическое обследование под седацией, цитологический и бактериологический анализ синовиальной жидкости, ПЦР диагностика синовиальной жидкости, крови и биоптатов на токсоплазмоз, бартонеллез, пастереллез, кальцивироз. На осмотре пациенты были не активны, перемежающаяся хромота была выявлена во всех случаях. Общий клинический осмотр выявил местную гипертермию скакательных, лучезапястных суставов билатерально во всех случаях и плече-лопаточных суставов билатерально в 2-х случаях. На нейроортопедическом осмотре выявлен выраженный болевой синдром при пальпации в области всех суставов. Термометрия во всех

случаях зафиксировала отсутствие отклонений от нормы 37,5 – 39,5 °С. Аускультация также не выявила отклонений во всех случаях. При проведении рентгенографии суставов пораженных конечностей во всех случаях было выявлено увеличение капсулы сустава, наличие признаков эррозивного полиартрита с множественными экзостозами. Все пациентам был выполнен артроцентез пораженных суставов с забором синовиальной жидкости. В 4-х случаях по цитологическому исследованию было выявлено нейтрофильное воспаление, в 2-х случаях было выявлено эозинофиальное и нейтрофильное воспаление. Данная цитологическая картина чаще характерна для септического процесса внутри сустава. Инфекционных агентов по цитологическому исследованию не было выявлено во всех случаях. Бактериологическое исследование синовиальной жидкости не выявило инфекционных агентов во всех случаях. В 2х случаях диагноз системный кальцивироз был установлен на основании цитологической картины синовиальной жидкости и ПЦР диагностики крови на кальцивироз. Во всех остальных случаях для установки окончательного диагноза был выполнен открытый забор биоптатов скакательных и лучезапястных суставов билатерально с последующим их исследованием. В дифференциальные диагнозы пациентов, на основании проведенных исследований, были включены: микотический полиартрит, микоплазмоз, аутоиммунный эррозивный полиартрит, пастереллез, бартонеллез, системный кальцивироз, идиопатический иммуноопосредованный полиартрит, некротизирующий фасциит, гистоплазмоз.

Выполнение техники операции и уточнение оперативного доступа проводилась на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО СПбГУВМ на кадаверном материале [10-15].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате исследования было установлено, что для взятия биоптатов внутрисуставных структур и капсулы сустава наиболее безопасны лучезапястные и скакательные суставы. Исходя из данных исследований, для получения наиболее достоверного результата биоптатов при поиске инфекционного агента необходимо выполнять забор из четырех-пяти суставов. Чаще всего при инфекционном полиартрите у кошек поражение начинается с крупных дистальных суставов квадропедально, то есть со скакательных и лучезапястных суставов. При выборе суставов для безопасного забора биоптатов необходимо руководствоваться следующими критериями: максимальная визуализация анатомических ориентиров и наименьшая вероятность травматизации магистральных сосудов и нервов при формировании доступов в условиях отека и перерастяжения капсулы сустава. Наиболее вероятно повреждение магистральных сосудов и нервов при измененной анатомии при выполнении артротомии локтевого сустава. При механическом повреждении и\или растяжении ретракторами лучевого, локтевого и срединного нерва может развиться длительная нейропраксия и, как следствие, ухудшение качества жизни у пациентов с полиартритом. Интраоперационная навигация при увеличении капсулы сустава, также будет сильно затруднена и опасна при выполнении артротомии плечелопаточных и тазобедренных суставов. В случае тазобедренных суставов в следствие отека может меняться топография седалищных нервов и, окружающих сустав, мышц. При ятрогенном повреждении седалищных нервов также может развиться длительная нейропраксия, а большое растяжения мягких тканей в стандартном кранио-латеральном доступе может спровоцировать образование серомы или инфекции в области оперативного вмешательства, что в дальнейшем приведет к ухудшению состояния и необходимости дополнительного лечения у кошек с полиартритом. В случае плечелопаточных суставов наибольшую опасность представляет несколько анатомических структур: плече-лопаточное нервное сплетение на медиальной поверхности, латеральная подкожная вена и ветви пле-

чевой вены на латеральной поверхности, а также большое количество мышечной ткани в доступе.

В связи с тем, что задача данной операции – получение материала из полости сустава и капсулы сустава, необходимо помнить о минимальной травматизации в области доступа. Кошки с полиартритом испытывают длительную хроническую боль, которую усугубит оперативное вмешательство, поэтому минимальная травматизация тканей при артротомии является важной задачей, стоящей перед хирургом, выполняющим данную манипуляцию. Для безопасного забора биоптатов из суставов хорошо подходит артротомия скакательного сустава и лучезапястного сустава. Данный вариант артротомии в ветеринарной медицине очень редко выполняется кошкам в лечебных целях, в связи с ограниченным количеством заболеваний в этой области на данный момент. Артротомию лучезапястного сустава наиболее безопасно выполнять с краниолатеральной поверхности в проекции сустава. Пальпаторно необходимо найти следующие анатомические ориентиры: дистальный край локтевой кости, дистальный край лучевой кости. По возможности следует выполнить флексию сустава при выполнении доступа. Для упрощения навигации можно использовать инъекционную иглу, введенную в проекции латерального края лучевой кости и промежуточнолучевой кости и выполнить неглубокий вертикальный разрез по направлению к костям пясти, размером около 1.5-2см. С помощью тупой препаровки следует углубить доступ и выполнить повторную пальпацию с флексией и экстензией лучезапястного сустава для безошибочной навигации. С помощью скальпеля необходимо выполнить рассечение капсулы сустава поперечным разрезом между дорсальной лучезапястной связкой и промежуточнолучевой костью, по направлению волокон связки. После выполнения доступа следует выполнить тракцию мягких тканей и выполнить забор капсулы сустава с краниальной поверхности и фиброзной ткани при ее наличии в области поражения. При необходимости выполнить забор фрагментов суставной поверхности или экзостозов в проекции доступа. После выполнения необходимых манипуляций следует ушить кожу простым узловатым швом. В связи с отсутствием большого количества мягких тканей в области лучезапястного сустава у кошки, возможно только ушивание кожи. К особенностям доступа следует отнести простую интраоперационную навигацию и отсутствие «критических точек» в ходе доступа. Следует избегать продольного рассечения тканей без визуализации связочного аппарата, однако по данным исследований частичная травматизация связок и сухожилий на краниолатеральной поверхности не принесет нестабильности в лучезапястном суставе.

Доступ к скакательному суставу у кошек с полиартритом наиболее безопасно выполнять с краниальной и каудолатеральной поверхности. Для забора капсулы сустава наиболее подходящим доступом является каудо-латеральный доступ, а для забора хрящевой ткани сустава наиболее подходящим является краниальный доступ. Анатомическими ориентирами для каудолатеральной артротомии скакательного сустава будут служить ахиллово сухожилие, каудальный край пяточного бугра и латеральная лодыжка. Следует выполнить продольный разрез кожи между каудальным краем пяточного бугра и латеральной лодыжки, по ходу ахиллова сухожилия. Разрез кожи должен составлять около 1.5см – 2см в длину. С помощью препарирования следует углубить доступ и выполнить флексию скакательного сустава, после чего можно безопасно выполнить забор капсулы сустава. Визуализация суставного хряща в данном доступе не является адекватной, это связано с анатомическим строением сустава и для визуализации суставного хряща придется выполнять избыточную тракцию костей и мягких тканей, что не является безопасным для пациента и не рекомендовано к выполнению. Ушивание операционной раны производится с помощью простого узловатого шва, также до-

пустимо ушивание только кожного покрова. Краниальный доступ к скакательному суставу следует выполнять при полной экстензии в суставе. Для облегчения навигации лучше использовать инъекционную иглу, перфорирующую сустав. Рассечение кожи следует выполнить вертикально по краниальной поверхности сустава. С помощью препарирования углубить доступ и выполнить поперечное рассечение капсулы сустава. В данном доступе хорошо визуализируется суставной хрящ, при этом можно избежать избыточной тракции костных и мягкотканых структур, также при необходимости при краниальной артротомии скакательного сустава можно выполнить безопасный забор экзостозов и суставной поверхности.

НАПРАВЛЯЕМЫЙ МАТЕРИАЛ:
Биоптаты ткани суставной капсулы правого скакательного сустава размерами 3 мм и 5 мм.

МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ:
2708/21: биоптаты ткани суставной капсулы правого скакательного сустава, 2 среза с 2 уровнями секции: биоптаты содержат фиброзную коллагенозную ткань с умеренно, очагово значительно расширенными кровеносными капиллярами. В коллагенозной строме выявляются воспалительные инфильтраты низкой клеточности из нейтрофилов. Опухолевый рост в биоптатах отсутствует.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ ДИАГНОЗ:
2708/21: биоптаты ткани суставной капсулы правого скакательного сустава: фиброзная ткань со слабым нейтрофильным воспалением.

КОММЕНТАРИЙ: в исследуемых биоптатах не выявляется капсула сустава с выстилкой из синовиоцитов, однако если материал получен из фиброзной ткани в области сустава, можно предположить нейтрофильный артрит. Инфекционные причины артрита у кошек включают бактерии, микоплазмы, калицивирус, вирус инфекционного перитонита кошек, микозы (в основном криптококкоз и гистоплазмоз) и некоторые клещевые риккетсии [Lemetayer, 2014]. С учетом анамнеза, полиартрит у пациента может быть ассоциирован с вирусом перитонита кошек. Для дифференцировки также может быть проведено цитологическое исследование синовиальной жидкости.

Цитированный источник: Lemetayer, Julie, and Susan Taylor. "Inflammatory joint disease in cats: diagnostic approach and treatment." *Journal of feline medicine and surgery* 16.7 (2014): 547-562.

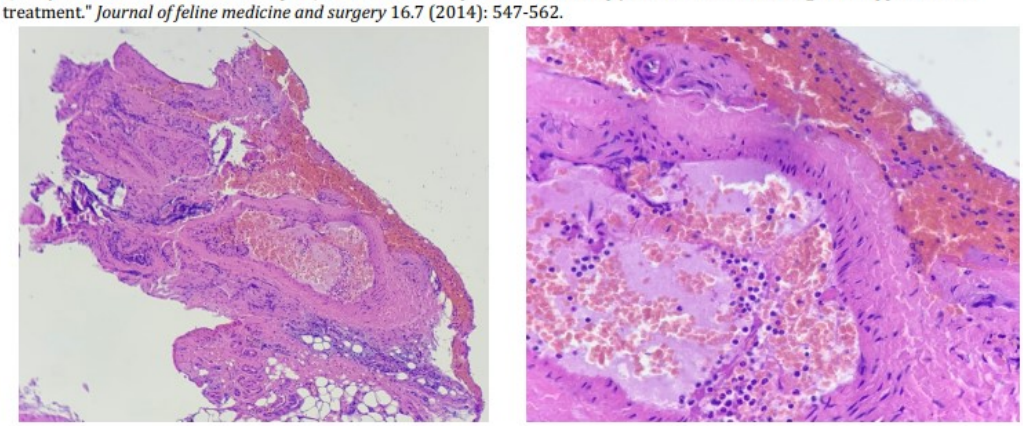


Рисунок 1 – Гистологическое заключение биоптата ткани суставной капсулы правого скакательного сустава при инфекционном полиартрите.

Диагностика инфекционных заболеваний методом ПЦР. Инфекционные болезни кошек. Исследование № 354752-2021/7720

Инфекционное заболевание (Возбудитель инфекционного заболевания)	Результат	Исследуемый материал
Наличие коронавируса кошек (Feline coronavirus)	положительно	Выпотная жидкость

Определение сывороточного амилоида у кошек методом иммунофлюоресценции (VcheckV-200 SAA)

№456719-2024/9

Показатель	Референтный интервал	Результат исследования
Сывороточный амилоид, мкг/мл	0,0-10,0	119,7

Диагностика инфекционных заболеваний методом ПЦР. Инфекционные болезни кошек. Исследование № 456719-2024/406

Инфекционное заболевание (Возбудитель инфекционного заболевания)	Результат	Исследуемый материал
Калицивироз (Feline calicivirus)	отрицательно	Цельная кровь
Бартонеллез (Bartonella henselae)	отрицательно	Цельная кровь
Микоплазмоз (Mycoplasma felis)	положительно	Биоптат суставной капсулы
Пастереллез (Pasteurella multocida)	отрицательно	Биоптат суставной капсулы
Токсоплазмоз (Toxoplasma gondii)	отрицательно	Биоптат суставной капсулы

Рисунок 2 – Результаты исследований методами ПЦР и ИФА при инфекционном полиартрите кошек.

В случае пациентов, проходивших лечение, в раннем постоперационном периоде были выявлены незначительные осложнения, проявившиеся в виде кратковременного увеличения сустава, при этом степень хромоты на конечности не усугубились, в сравнении с предоперационной оценкой. Прочие постоперационные осложнения, проявлявшиеся в виде системной незначительной гипертермии и повышением артериального давления связаны с общим состоянием пациентов и их первичных заболеванием. Благодаря биопсии и исследованию полученного материала всем пациентам был установлен окончательный диагноз. В 2х случаях был выявлен возбудитель - микоплазма, в одном случае был установлен диагноз инфекционный перитонит кошек, однако в списке дифференциальных диагнозов это заболевание не рассматривалось в связи с единичными описанными случаями выявления этого заболевания в суставах у кошек. В одном случае был выявлен истинный септический полиартрит, возбудителем которого являлась E. Coli. После установки окончательного диагноза пациентам было назначено направленное лечение, после чего состояние кошек резко улучшилось. Следует обратить внимание, что исходя из данных исследований, полное излечение у кошек после инфекционного полиартрита наступает лишь в 20% - 30% случаев, поэтому установка окончательного диагноза, по средствам биопсии у кошек с полиартритом – неотъемлемое и необходимое условие назначения корректного лечения.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Тяжелых постоперационных осложнений, требующих повторного лечения у исследуемых пациентов, не наблюдалось.

Клинический результат в данных случаях можно назвать положительным, несмотря на наличие незначительных осложнений в раннем послеоперационном периоде. Диагноз у большинства пациентов был установлен на основании исследования биоптатов суставной капсулы и суставного хряща. Для забора материала у кошек с полиартритом и измененной анатомией в области суставов – наиболее безопасной локализацией являются краниолатеральный доступ к лучезапястному суставу, каудолатеральный доступ к скакательному суставу и краниальный доступ к скакательному суставу.

ANATOMICAL AND TOPOGRAPHIC SUBSTANTIATION OF BIOPSY OF INTRAARTICULAR STRUCTURES IN INFECTIOUS POLYARTHRITIS IN CATS

Rybalkin, S.M.[1] – vet. the doctor, the head. Department of Surgery (ORCID 0009-0001-5824-0547); **Shchipakin, M.V.**[2] – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Head of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0000-0002-2960-3222); **Melnikov, S.I.**[2] – cand. Veterinarian, Assistant of the Department of Animal Anatomy (ORCID 0000-0002-0963-8751).

[1]Network of veterinary centers "Kotonai"

[2]St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* m.shchipakin@yandex.ru

ABSTRACT

Currently, infectious polyarthritis in cats is a very urgent problem in veterinary medicine. Worldwide, one of the most common causes of cat euthanasia is polyarthritis of unexplained etiology, which is not amenable to empirical and symptomatic treatment. The difficulty in diagnosing polyarthritis in cats lies in the large number of infectious agents that can penetrate into joint tissues with blood and lymph flow, while not all regions of the world have a full-fledged diagnosis of these diseases. The second reason complicating the diagnosis of polyarthritis in cats is the absence of infectious agents in the synovial fluid during its examination by various methods such as PCR, bacteriological culture, and ELISA diagnostics. The aim of the study was to consider an open method of biopsy of intraarticular structures in cats with infectious polyarthritis and to identify the safest places of material selection for patients with anatomical and topographic justification. The study was conducted in the Network of veterinary centers "Kotonai" and at the Department of Animal Anatomy of the St. Petersburg State University of Veterinary Medicine. The object of the study was cats in the number of six individuals. The average age of the patients ranged from 3 months to 9 years. There were no severe postoperative complications requiring repeated treatment in the studied patients. The clinical result in these cases can be called positive, despite the presence of minor complications in the early postoperative period. The diagnosis in most patients was established on the basis of examination of biopsies of the articular capsule and articular cartilage. For the collection of material in cats with polyarthritis and altered anatomy in the joint area, the safest localization is craniolateral access to the wrist joint, caudolateral access to the hock joint and cranial access to the hock joint.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Ортопедические патологии кошек: инцидентность, диагностика, лечение / Л. С. Барсегян, С. А. Ягников, О. А. Кулешова [и др.] // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные. – 2016. – № 6. – С. 10-18.

2.Дочилова, Е. С. Нарушение функции опорно-двигательного аппарата у животных на примере ветеринарных клиник города Омска / Е. С. Дочилова, С. В. Чернигова, Ю. В. Чернигов // Омский научный вестник. – 2015. – № 2(144). – С. 207-209.

3.Шерстнев, С. В. Чтение рентгеновских снимков. Рентгенодиагностика травматических повреждений, заболеваний, инородных тел у кошки и собаки. – Екатеринбург, «Филантроп», 2002. – 118с.

4.Макарова, М. Н. Кошки в лабораторных исследованиях. Обзор литературы / М. Н.

Макарова // Лабораторные животные для научных исследований. – 2021. – № 1. – С. 86-104. – DOI 10.29296/2618723X-2021-01-09.
5.Рахманина, М. М. Особенности клинических проявлений калицивирусной инфекции кошек, вызванной разными штаммами вируса / М. М. Рахманина, В. И. Уласов // Ветеринарная патология. – 2006. – № 3(18). – С. 22-26.
6.Дудина, М. В. Распространение, диагностика и профилактика кальцивироза кошек в условиях частных ветеринарных клиник / М. В. Дудина // Молодежь XXI века: шаг в будущее: Материалы XIX региональной научно-практической конференции. В 3-х томах, Благовещенск, 23 мая 2018 года. Том 2. – Благовещенск: Дальневосточный государственный аграрный университет, 2018. – С. 31-32.
7.Balboni A, Verin R, Buldrini I, Zamagni S, Morini M, Terrusi A, Gallina L, Urbani L, Dondi F, Battilani M. Natural cases of polyarthritis associated with feline calicivirus infection in cats. Vet Res Commun. 2022 Jun;46(2):613-619. doi: 10.1007/s11259-022-09933-4.
8.Coulson, A. An atlas of interpretative radiographic anatomy of the dog and cat / A. Coulson, N. Lewis. - Ames, Iowa: John Wiley & Sons Blackwell Publishing, 2008. - 664 p.
9.Мельников, С. И. Особенности морфологии плечевого сплетения кошки домашней / С. И. Мельников // Знания молодых - будущее России: Материалы XVII Международной студенческой научной конференции. Сборник научных трудов, Киров, 10–12 апреля 2019 года. Том Часть 1. – Киров: Вятская государственная сельскохозяйственная академия, 2019. – С. 308-310.
10.Метод анатомического исследования соматической части периферической нервной системы / С. В. Вирунен, М. В. Щипакин, Н. В. Зеленевский [и др.] // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2018. – № 1(37). – С. 15-19.
11.Анатомия скелета плеча и предплечья у собак породы бассет хаунд / М. В. Щипакин, С. В. Вирунен, А. В. Прусаков, Д. С. Былинская // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. – 2016. – № 3(50). – С. 114-119. – DOI 10.17238/issn2071-2243.2016.3.114.
12.Васильев, Д. В. Мышцы локтевого сустава лисицы породы Бастард / Д. В. Васильев, В. А. Хватов, М. В. Щипакин // Международный вестник ветеринарии. – 2022. – № 1. – С. 116-119. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2022.1.116.
13.Анатомо-топографические особенности строения локтевого нерва белой швейцарской овчарки / В. А. Хватов, М. В. Щипакин, Д. С. Былинская, А. С. Стратонов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2021. – № 4. – С. 161-164. – DOI 10.52419/issn2072-6023.2021.4.161.
14.Артериальное кровоснабжение области предплечья и кисти немецкой овчарки / А. В. Прусаков, М. В. Щипакин, Н. В. Зеленевский [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2019. – № 2. – С. 128-130.
15.Морфометрия нервных стволов грудной конечности йоркширского терьера / С. В. Вирунен, М. В. Щипакин, А. В. Прусаков [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2017. – № 2. – С. 27-29.

REFERENCES

1. Orthopedic pathologies of cats: incidence, diagnosis, treatment / L. S. Barseghyan, S. A. Yagnikov, O. A. Kuleshova [et al.] // Russian Veterinary Journal. Small domestic and wild animals. - 2016. – No. 6. – pp. 10-18.
2. Dochilova, E. S. Violation of the function of the musculoskeletal system in animals on the example of veterinary clinics in Omsk / E. S. Dochilova, S. V. Chernihiv, Yu. V. Chernihiv // Omsk scientific bulletin. – 2015. – № 2(144). – Pp. 207-209.
3. Sherstnev, S. V. Reading X-ray images. X-ray diagnostics of traumatic injuries, diseases, and foreign bodies in cats and dogs. – Yekaterinburg, "Philanthropist", 2002. – 118c.
4. Makarova, M. N. Cats in laboratory research. Literature review / M. N. Makarova // Laboratory animals for scien-

tific research. – 2021. – No. 1. – pp. 86-104. – DOI 10.29296/2618723X-2021-01-09.
5. Rachmanina, M. M. Features of clinical manifestations of feline calicivirus infection caused by different strains of the virus / M. M. Rachmanina, V. I. Ulasov // Veterinary pathology. – 2006. – № 3(18). – Pp. 22-26.
6. Dudina, M. V. Distribution, diagnosis and prevention of calcivirosis of cats in private veterinary clinics / M. V. Dudina // Youth of the XXI century: a step into the future: Materials of the XIX regional scientific and practical conference. In 3 volumes, Blagoveshchensk, May 23, 2018. Volume 2. – Blagoveshchensk: Far Eastern State Agrarian University, 2018. – pp. 31-32.
7.Balboni A, Verin R, Buldrini I, Zamagni S, Morini M, Terrusi A, Gallina L, Urbani L, Dondi F, Battilani M. Natural cases of polyarthritis associated with feline calicivirus infection in cats. Vet Res Commun. 2022 Jun;46(2):613-619. doi: 10.1007/s11259-022-09933-4.
8.Coulson, A. An atlas of interpretative radiographic anatomy of the dog and cat / A. Coulson, N. Lewis. - Ames, Iowa: John Wiley & Sons Blackwell Publishing, 2008. - 664 p.
9. Melnikov, S. I. Features of the morphology of the brachial plexus of a domestic cat / S. I. Melnikov // Knowledge of the young - the future of Russia: Materials of the XVII International Student Scientific Conference. Collection of scientific papers, Kirov, April 10-12, 2019. Volume Part 1. – Kirov: Vyatka State Agricultural Academy, 2019. – pp. 308-310.
10. Method of anatomical examination of the somatic part of the peripheral nervous system / S. V. Virunen, M. V. Shchipakin, N. V. Zelenevsky [et al.] // Topical issues of veterinary biology. – 2018. – № 1(37). – Pp. 15-19.
11. Anatomy of the skeleton of the shoulder and forearm in basset Hound dogs / M. V. Shchipakin, S. V. Virunen, A.V. Prusakov, D. S. Bylinskaya // Bulletin of the Voronezh State Agrarian University. – 2016. – № 3 (50). – Pp. 114-119. – DOI 10.17238/issn2071-2243.2016.3.114.
12. Vasiliev, D. V. Muscles of the elbow joint of the Bastard fox / D. V. Vasiliev, V. A. Khvatov, M. V. Shchipakin // International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2022. – No. 1. – pp. 116-119. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2022.1.116.
13. Anatomical and topographic features of the structure of the ulnar nerve of the white Swiss Shepherd / V. A. Khvatov, M. V. Shchipakin, D. S. Bylinskaya, A. S. Stratonov // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. - 2021. – No. 4. – pp. 161-164. – DOI 10.52419/issn2072-6023.2021.4.161.
14. Arterial blood supply to the forearm and hand area of the German Shepherd / A.V. Prusakov, M. V. Shchipakin, N. V. Zelenevsky [et al.] // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. – 2019. – No. 2. – pp. 128-130.
15. Morphometry of the nerve trunks of the thoracic limb of the Yorkshire Terrier / S. V. Virunen, M. V. Shchipakin, A.V. Prusakov [et al.] // International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2017. – No. 2. – pp. 27-29.

УДК: 591.112.2 / 3
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.310

ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ КАРДИОГЕМОДИНАМИКИ ЛОШАДЕЙ МЕТОДОМ ОБЪЕМНОЙ КОМПРЕССИОННОЙ ОСЦИЛЛОМЕТРИИ

Степура Е.Е. – канд. биол. наук, доц. кафедры биологии и физиологии человека (ORCID 0000-0002-0554-6331)

ГАОУ ВО г. Москвы, Московский городской педагогический университет,
Институт естествознания и спортивных технологий

*Chimik89@mail.ru

Ключевые слова: *осциллометрия кардиогемодинамическая, лошади, сердце, сердечно-сосудистая система.*
Key words: *oscillometry, cardiohemodynamic, horses, heart, cardiovascular system.*

Поступила: 25.12.2023 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Сердечно-сосудистая система человека и животных, представляет собой комплекс органов, обеспечивающих снабжение всех участков организма (за небольшим исключением) необходимыми веществами и удаляющих продукты жизнедеятельности. Именно сердечно-сосудистая система обеспечивает все участки тела необходимым кислородом и является основой жизни. В настоящее время не теряют актуально-сти исследования проблемы поддержания оптимального уровня благополучия, оценка функционального состояния и улучшения адап -тационных возможностей животных. Значимым направлением в этой области является исследо-вание деятельности сердечно-сосудистой сис-темы (ССС), для параметров которой характер-на высокая реактивность и важная роль в осу-ществлении адаптационных механизмов орга-низма животных. Сердечно-сосудистые заболевания, остаются главной причиной смертности в большинстве случаев как человека, так и животных. Во многом решение этой проблемы зависит от своевременной и эффективной диагностики изменений в миокарде. Главная цель исследовательской работы установить показатели кардиогемодинамических значений и проанализировать их у лошадей. В наших исследованиях для измерения и дальнейшего анализа показателей центральной и периферической гемодинамики использовали аппаратно-программный комплекс неинвазивного исследования центральной гемодинамики методом объемной компрессионной осциллометрии КАП ЦГосм-«Глобус» (анализатор показателей кровообращения осциллометрический). У лошадей в ходе исследования получили средние числовые значения миокардиально-гемодинамических показателей: разные виды артериального давления, сосудистые характеристики и показатели сердечной деятельности. При математическом анализе показатели гемодинамики установили значения показателей кардиогемодинамики. В связи с этим оценку этих параметров целесообразно включить в базовый набор комплекса методик диагностики заболеваний сердца у лошадей. Изучение сердечно-сосудистой системы имеет большое значение в ветеринарной лечебно-профилактической работе.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Сердечно-сосудистая система человека и животных, представляет собой комплекс органов, обеспечивающих снабжение всех участков организма (за небольшим исключением) необходимыми веществами и удаляющих продукты жизнедеятельности. Именно сердечно-сосудистая система обеспечивает все участки тела необходимым кислородом и является основой жизни [5].

Заболеваемость животных и человека болезнями сердечно-сосудистой системы является одной из наиболее значимых проблем во всем мире [8].

Сердечно-сосудистая заболеваемость (ССЗ) характеризуется высокой летальностью [3, 7].

В настоящее время в практике функциональной диагностики применяется весьма значительное количество методов и методик, которые позволяют оценивать не только отдельные параметры движения и перераспределения крови в организме человека и животных, но и функции отдельных звеньев сердечно-сосудистой системы, осуществляющих эти процессы. Исследование особенностей гемодинамики призвано решить две основные задачи: выявить общие закономерности функционирования кардиоваскулярной системы и определить индивидуальные особенности ведущих показателей кровообращения, что используется для решения различных практических задач, в частности, при диагностике нарушений гемодинамики [1, 2, 4].

Производительность сердца – важнейший параметр, используемый для диагностики и терапии широчайшего спектра заболеваний и состояний.

Одним из приоритетных направлений в профилактической медицине является донозологическая диагностика, позволяющая оценить уровень здоровья и контролировать здоровье животного при различных функциональных состояниях в динамике [2, 6].

Для адекватного кровоснабжения органов и тканей в организме человека и животных существует многоконтурная система регуляции, в которой выделяют два основных уровня: региональный и центральный [10-19].

Однако в отечественных и зарубежных источниках отсутствуют данные параметров кардиогемодинамики у лошадей и подобные исследования физиологических особенностей кровообращения ранее не проводились и в доступной научной литературе не описаны.

Цель исследований – изучение показателей кардиогемодинамики у лошадей для оценки возможности включения их в комплексный подход к анализу функционирования сердца у данных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследовано было 150 клинически здоровых лошадей, которые содержались в одинаковых условиях.

Исследования проводились в Конном Клубе «Рязанский табунок» Требухино (поселок Ласковский, Рязань), КСК «Росинант» (Рязанская область, д. Хирино), Пермский племенной конный завод №9 (Рязанская область, Сапожковский район, Село Черная Речка).

Объектом исследования являлись лошади в возрасте от 2 до 23 лет, находились в активном тренинге, а также использовались в прокате для обучения верховой езде, вес в среднем составил 550,78 кг, породы – орловская рысистая, русская рысистая, американская рысистая и ганноверская.

Во время регистрации показателей гемодинамики, лошадей фиксировали с помощью недоуздка на развязках. Опыты проводили в утренние или дневные часы за 1 час до кормления / тренинга или спустя 1 час после.

В нашем исследовании для измерения и дальнейшего анализа показателей центральной и периферической гемодинамики мы использовали аппаратно-программный комплекс неинвазивного исследования центральной гемодинамики методом объемной компрессионной осциллометрии с использованием прибора КАП ЦГосм-«Глобус» (анализатор показателей кровообращения осциллометри-

ческий).

В настоящий момент, существует большое количество разнообразных методов, которые позволяют получить большой спектр показателей центральной и периферической гемодинамике. Исследование проводилось на хвостовой артерии у клинически здоровых лошадей.

Исследование показателей гемодинамики проводилось согласно требованиям, предъявляемым к методике объемной компрессионной осциллометрии (ОКО). При проведении измерения на хвостовую аретрию исследуемых животных – лошадей накладывалась манжета, соединенная с измерительным блоком. Компрессия манжеты, запись осциллограммы и анализ данных выполнялись автоматически.

Оценка состояния сердечно-сосудистой системы производилась на основании показателей, регистрируемых в результате измерения. Нами изучались следующие показатели: систолическое артериальное давление (САД) и диастолическое артериальное давление (ДАД), боковое артериальное давление (БАД), среднее артериальное давление (СрАД), пульсовое артериальное давление (АДп), скорость пульсового артериального давления (СКАДп), частота сердечных сокращений (ЧСС), сердечный выброс (СВ), сердечный индекс (СИ), ударный (или систолический) объем сердца (УО), ударный индекс (УИ), объемная скорость выброса (ОСВ), мощность сокращения левого желудочка (МСЛЖ), расход энергии (РЭ), скорость кровотока линейная (СКлин), скорость распространения пульсовой волны (СПВ), податливость сосудистой системы (ПСС), общее периферическое сопротивление сосудов (ОПСС) и удельное периферическое сопротивление сосудов (УПСС).

Клинические исследования включали в себя пальпацию, перкуссию и аускультацию в строгом соответствии с методикой клинического обследования животных по Б.В. Уша [9].

Обработку полученного материала проводили в программе Statistica 10.0 for Windows и рассчитывали следующие параметры: среднее арифметическое (M), ошибку среднего арифметического (m).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты исследования оценки состояния центрального гемодинамического статуса у 150 лошадей методом компрессионной объемной осциллометрии (КОО) позволил установить различные параметры центрального и периферического кровообращения.

Осциллограмма исследуемой лошади по кличке Лист представлена на рисунке 1.

Автоматизированный анализ осциллограмм позволяет уточнять абсолютные значения интегрированных показателей гемодинамики.

Получены средние значения миокардиально-гемодинамических показателей: разные виды артериального давления, сосудистые характеристики и показатели сердечной деятельности, представлены в таблица 1, 2, 3.

При анализе полученных данных становится возможным определение таких показателей артериального давления (АД), как среднее (АДср), боковое (АДбок), пульсовое (АДп), ударное (АДуд), а также скорости и характера нарастания пульсовой волны, что, в свою очередь, позволяет оценить эластотонические свойства сосудистой стенки.

Артериальное давление – это энергия, с которой движущаяся кровь давит на стенки артерий. В связи с ритмической работой сердца кровяное давление в артериальной системе периодически колеблется, повышаясь во время систолы и снижаясь во время диастолы. Систолическое артериальное давление составило 115,91±12,3 мм рт. ст., а диастолическое – 65,02±7,39 мм рт. ст.

Пульсовое давление (АДп) вычисляется как разница между систолическим и диастолическим давлением, составило 50,89±6,2 мм рт. ст.

Среднее артериальное давление (АДср) – это среднее значение давления в артериях во время систолы и диастолы сердца, для исследуемых лошадей составило 82,1±3,27 мм рт. ст.

Таблица 1 – Средние показатели гемодинамики артериального давления лошадей с помощью метода объемной компрессионной осциллометрии, (n=150), M±m

Показатель	Ед. изм.	M±m
Систолическое артериальное давление	мм рт. ст.	115,91±12,3
Диастолическое артериальное давление	мм рт. ст.	65,02±7,39
Боковое артериальное давление	мм рт. ст.	99,83±7,2
Среднее артериальное давление	мм рт. ст.	82,1±3,27
Артериальное давление пульсовое	мм рт. ст.	50,89±6,2
Скорость пульсового артериальное давление	мм рт. ст.	213,2±9,14
Артериальное давление ударное	мм рт. ст.	30,05±0,81

Таблица 2 – Средние показатели гемодинамики сердечной деятельности лошадей с помощью метода объемной компрессионной осциллометрии, (n=150), M±m

Показатель	Ед. изм.	M±m
Пульс	уд/мин	42,78±9,5
Сердечный выброс	л/мин	35,07±4,79
Сердечный индекс	л/мин^2	2,48±0,06
Ударный объем	мл	486,3±23,3
Ударный индекс	мл	1,62±0,7
Объемная скорость выброса	мл/с	497,71±14,92
Мощность сокращения ЛЖ	Вт	5,51±0,22
Расход энергии на 1 л СВ за минуту	Вт	10,96±0,23

Таблица 3 – Средние значения сосудистых показателей гемодинамики лошадей с помощью метода объемной компрессионной осциллометрии, (n=150), M±m

Показатель	Ед. изм.	M±m
Скорость кровотока линии	см/с	47,61±1,26
Скорость пульсовой волны	см/с	787,55±31,98
Податливость сосудистой системы	мл/мм рт. ст.	2,91±0,07
Общее периферическое сопротивление сосудов	дин*сек$^{-5}$/см	708,19±17,29
Удельное периферическое сопротивление	усл. ед	35,19±0,85

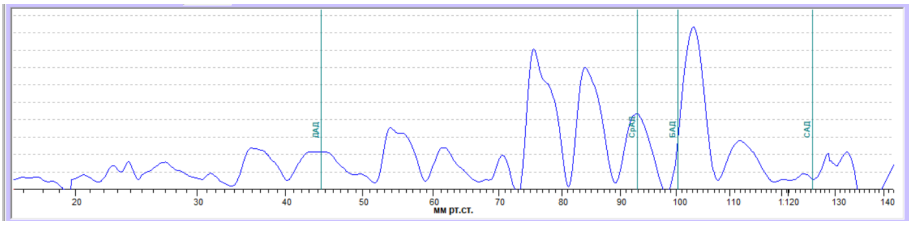


Рисунок 1 – Осциллограмма исследуемой лошади по кличке Лист.

Пульсовое и среднее артериальное давление оценивают работу сердечно-сосудистой системы и состояние артерий.

Скорость распространения пульсовой волны зависит от растяжимости сосудистой стенки и отношения толщины стенки к радиусу сосуда. Данный показатель используют для характеристики упруго-эластических свойств и тонуса сосудистой стенки. В норме для исследуемых лошадей показатель составил 213,2±9,14 мм рт. ст.

Боковое артериальное давление – это давление, которое испытывает внутренняя стенка сосуда (артерии) во время систолы. Клиническое значение бокового систолического значения состоит в том, что по его уровню определяется истинное давление во время систолы и истинная пульсовая амплитуда, что составило для исследуемых животных – 99,83±1,45 мм рт. ст.

Ударное давление отражает деятельность сердца и состояние стенок сосудов, что составило для исследуемых животных – 30,05±0,81 мм рт. ст.

Сердечным выбросом называют количество крови, выбрасываемое правым или левым желудочком в единицу времени. В норме эта величина варьирует в широких пределах, при необходимости сердечный выброс может увеличиваться более чем в пять раз по сравнению с уровнем покоя. Данный показатель позволяет оценить эффективность работы сердца и кровообращения в организме. Поскольку желудочки соединены последовательно, их выбросы при каждом сокращении должны быть примерно одинаковы, что составило 35,07±4,79 л/мин.

Сердечный индекс (КИ) – это гемодинамический параметр, который связывает сердечный выброс (СО) из левого желудочка за одну минуту с площадью поверхности тела (БСА), таким образом, связывая работу сердца с размером человека и животных, для лошадей данный показатель составил 2,48±0,06 л/мин^2.

Ударный объём сердца – объём, который левый желудочек выбрасывает в аорту (а правый – в лёгочный ствол) за одно сокращение, для исследуемых животных он составил 486,3±23,3 мл.

Ударный индекс (УИ) используется для оценки адекватности объема выброса к потребностям организма и для лошадей составил 1,62±0,7 мл/кг.

Объемная скорость кровотока – количество крови, протекающее через поперечное сечение сосуда в единицу времени. Объемная скорость кровотока через сосуд прямо пропорциональна давлению крови в нем и обратно пропорциональна сопротивлению току крови в этом сосуде, для исследуемых животных – 494,71±14,92 мл/с.

Мощность сокращения левого желудочка (МСЛЖ) – работа, выполняемая левым желудочком в единицу времени, например, в 1 сек, для животных составило 5,51±0,22 Вт.

Расход энергии на передвижение одного литра крови (РЭ) – мера напряжения, или энергии, развиваемой сократительным миокардом при выполнении им работы по передвижению крови в замкнутой системе сосудов, для исследуемых животных данный показатель составил 10,96±0,23 Вт.

Линейная скорость кровотока – это путь, который проходит кровь по сосудам за единицу времени. Под линейной скоростью кровотока понимается скорость перемещения частиц крови вдоль сосуда при ламинарном потоке, что составило 47,61±1,26 см/с.

Скорость пульсовой волны (PWV) – это скорость, с которой пульс кровяного давления распространяется по системе кровообращения, обычно по артерии или по совокупности артерий, для лошадей составило 787,55±31,98 см/с.

Податливость сосудистой системы – это способность полого органа (сосуда) растягиваться и увеличивать объем при увеличении трансмурального давления или тенденция полого органа сопротивляться возвращению к своим первоначальным размерам при приложении растягивающей или сжимающей силы 2,91±0,07 мл/мм рт. ст.

Общее периферическое сосудистое сопротивление (ОПСС) – сопротивление в большом круге кровообращения, создаваемое артериолами потоку крови. ОПСС создает силу, которую должна преодолеть сокращающаяся мышца сердца, для лошадей составила 708,19±17,29 дин*сек$^{-5}$/см.

Удельное периферическое сопротивление в условиях покоя (основного обмена) является величиной достаточно постоянной и колеблется у здоровых лошадей в среднем 35,19±0,85 усл.ед.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Оценке гемодинамики методом ОКО присущи очевидные достоинства: исключительная простота использования метода, абсолютная безопасность, отсутствие дополнительных датчиков и расходных материалов. Следует, однако, помнить, что у объемно-компрессионной осциллометрии есть ограничения, свойственные любому методу, основанному на анализе пульсовой волны.

Полученные показатели отражают состояние и работу сердечно-сосудистой системы. Они характеризуют кровоток и все его основные характеристики, такие как объем циркулирующей крови, скорость движения, сосудистое сопротивление и давление в них.

Измерение кардиогемодинамических показателей позволит дать оценку работе сердца, а также определить наличие патологий и контролировать эффективность лечения.

Значения данных гемодинамических показателей заключается в том, что они позволяют оценить состояние кровообращения и сердечной функции животного.

ASSESSMENT OF PHYSIOLOGICAL FEATURES OF EQUINE CARDIOHEMODYNAMICS BY VOLUMETRIC COMPRESSION OSCILLOMETRY

Stepura E. E. – Ph.D. Sc., Associate Professor, Department of Biology and Human Physiology,

State Autonomous Educational Institution of Higher Education in Moscow, Moscow City Pedagogical University, Institute of Natural Sciences and Sports Technologies

*Chimik89@mail.ru

ABSTRACT

The cardiovascular system of humans and animals is a complex of organs that ensure the supply of all parts of the body (with a few exceptions) with necessary substances and remove waste products. It is the cardiovascular system that provides all parts of the body with the necessary oxygen and is the basis of life. Currently, research into the problems of maintaining an optimal level of well-being, assessing the functional state and improving the adaptive capabilities of animals continues to be relevant. A significant direction in this area is the study of the activity of the cardiovascular system (CVS), the parameters of which are characterized by high reactivity and an important role in the implementation of adaptive mechanisms of the animal body. Cardiovascular diseases remain the leading cause of death in most cases in both humans and animals. In many ways, the solution to this problem depends on timely and effective diagnosis of changes in the myocardium. The main goal of the research work is to establish indicators of cardiohemodynamic values and analyze them in horses. In our studies, to measure and further analyze indicators of central and peripheral hemodynamics, we used a hardware-software complex for non-invasive study of central hemodynamics using the method of volumetric compression oscillometry KAP TsGosm-"Globus" (oscillometric analyzer of blood circulation indicators). In horses, during the study, average numerical values of myocardial-hemodynamic parameters were obtained: different types of blood pressure, vascular characteristics and indicators of cardiac activity. Mathematical analysis of hemodynamic indicators established the values of cardiohemodynamic indicators. In this regard, it is advisable to include the assessment of these parameters in the basic set of methods for diagnosing heart diseases in horses. The study of the cardiovascular system is of great importance in veterinary treatment and prophylactic work.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Аверьянова И.В., Максимов А.Л. Особенности морфофункциональных профилей и межсистемных взаимосвязей у юношей – уроженцев Севера с различным типом вегетативной регуляции // Экология человека. 2016. № 9. С. 21–29.

2.Баевский Р.М., Берсенева А.П., Берсенев Е.Ю., Ешманова А.К. Использование принципов донозологической диагностики для оценки функционального состояния организма при стрессорных воздействиях. Физиология человека. 2009;35

(1):41-51.
3.Бисярина В.П., Яковлев В.М., Кукса П.Я. Артериальные сосуды и возраст. М.: Медицина. 1986. 224 с.
4.Васюк Ю.А., Иванова С.В., Школьник Е.Л., Котовская Ю.В., Милягин В.И. и др. Согласованное мнение российских экспертов по оценке артериальной жесткости в клинической практике // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2016. № 15 (2). С. 4–19.
5.Ефремушкин Г.Г., Денисова Е.А., Филиппова Т.В. Гемодинамика в магистральных артериях у здоровых людей молодого возраста // Российский кардиологический журнал. 2009. № 1 (75). С. 18–23.
6.Левушкин С.П. Комплексная оценка физической работоспособности юношей // Физиология человека. 2001. Т. 27. № 5. С. 68.
7.Начкина Э.И. Ремоделирование сердца у больных артериальной гипертонией без нарушения углеводного обмена и при сочетании с сахарным диабетом II типа // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2009. № 8 (2). С. 39–45.
8.Серебряков П.В., Серебрякова О.Д., Яцына И.В., Соболевская О.В., Яцына Д.С. Оценка риска развития сердечно-сосудистой патологии у подростков. Здравоохранение Российской Федерации. 2016;60(2):70-76.
9.Уша, Б.В. Клиническая диагностика внутренних незаразных болезней животных /Б.В. Уша, И.М. Беляков, Р.П. Пушкарев; под редакцией В. Н. Сайтаниди. – 2-е изд. — Санкт-Петербург: Квадро, 2021.
10.Mangoni A.A., Mircoli L., Giannattasio C. Heart rate-dependence of arterial distensibility in vivo. J. Hypertens. 1996; 14: 897–901. 19. Asmar R., Topouchian J., Pannier B. et. al. Reversion of arterial abnormalities by long-term antihypertensive therapy in a large population. J. Hypertens. 1999.
11.Heff ernan K.S., Patvardhan E.A., Hession M., Ruan J., Karas R.H., Kuvin J.T. Elevated augmentation index derived from peripheral arterial tonometry is associated with abnormal ventricular-vascular coupling. Clin. Phys. Funct. Imag. 2010; 30 (5): 313–317.
12.Boutouyrie P., Tropeano A.I., Asmar R. Aortic stiff ness is an independent predictor of primary coronary events in hypertensive patients. Hypertension. 2002; 39: 10–15.
13.Oliver J.J., Webb D.J. Noninvasive assessment of arterial stiff ness and risk of atherosclerotic events. Arterioscler. Tromb. Vasc. Biol. 2003; 23: 554–566.
14.Vasan R.S., Levy D. Changes in arterial stiff ness and wave refl ection with advancing age in healthy men and women: the Framingham Heart Study. Hypertension. 2004; 43: 1239–1245.
15.Mitchell G.F., Guo C.Y., Benjamin E.J., Larson M.G., Keyes M.J., Vita J.A., Vasan R.S., Levy D. Cross-sectional correlates of increased aortic stiff ness in the community: the Framingham Heart Study. Circulation. 2007; 115: 2628–2636.
16.Cavalcante J.L., Lima J.A., Redheuil A., AlMallah M.H. Aortic stiff ness: current understanding and future directions. J. Am Coll. Cardiol. 2011; 57 (14): 1511–1522.
17.Laurent S., Boutouyrie P., Asmar R., Gautier I., Laloux B., Guize L., Ducimetiere P., Benetoset A. Aortic stiff ness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. Hypertension. 2001; 37: 1236.
18.Arnett D.K., Evans G.W., Riley W.A. Arterial stiff ness: a new cardiovascular risk factor? Am J. Epidemiol. 1994; 15: 669–682.
19.Laurent S., Cockcroft J., Van Bortel L. On behalf of the European Network of Non-invasive In-vestigation of large Arteries. Expert consensus document on arterial stiff ness: methodological issues and clinical application. Eur. Heart J. 2006; 27: 2588–2605.

REFERENCES

1.Averyanova I.V., Maksimov A.L. Features of morphofunctional profiles and intersystem relationships in young men - natives of the North with different types of autonomic regulation // Human Ecology. 2016. No. 9. pp. 21–29.
2.Baevsky R.M., Berseneva A.P., Bersenev E.Yu., Eshmanova A.K. Using the principles

of prenosological diagnostics to assess the functional state of the body under stress influences. Human physiology. 2009;35(1):41-51.
3.Bisyarina V.P., Yakovlev V.M., Kuksa P.Ya. Arterial vessels and age. M.: Medicine. 1986. 224 p.
4.Vasyuk Yu.A., Ivanova S.V., Shkolnik E.L., Kotovskaya Yu.V., Milyagin V.I. and others. Consensus opinion of Russian experts on the assessment of arterial stiffness in clinical practice // Cardiovascular therapy and prevention. 2016. No. 15 (2). pp. 4–19.
5.Efremushkin G.G., Denisova E.A., Filippova T.V. Hemodynamics in the main arteries in healthy young people // Russian Journal of Cardiology. 2009. No. 1 (75). pp. 18–23.
6.Levushkin S.P. Comprehensive assessment of the physical performance of young men // Human Physiology. 2001. T. 27. No. 5. P. 68.
7.Nachkina E.I. Cardiac remodeling in patients with arterial hypertension without impaired carbohydrate metabolism and in combination with type II diabetes mellitus // Cardiovascular therapy and prevention. 2009. No. 8 (2). pp. 39–45.
8.Serebryakov P.V., Serebryakova O.D., Yatsyna I.V., Sobolevskaya O.V., Yatsyna D.S. Assessing the risk of developing cardiovascular pathology in adolescents. Healthcare of the Russian Federation. 2016;60(2):70-76.
9.Usha, B.V. Clinical diagnosis of internal non-contagious animal diseases / B.V. Usha, I.M. Belyakov, R.P. Pushkarev; edited by V. N. Saitanidi. – 2nd ed. — St. Petersburg: Quadro, 2021.
10.Mangoni A.A., Mircoli L., Giannattasio C. Heart rate-dependence of arterial distensibility in vivo. J. Hypertens. 1996; 14:897–901. 19. Asmar R., Topouchian J., Pannier B. et. al. Reversion of arterial abnormalities by long-term antihypertensive therapy in a large population. J. Hypertens. 1999.
11.Heff Ernan K.S., Patvardhan E.A., Hession M., Ruan J., Karas R.H., Kuvin J.T. Elevated augmentation index derived from peripheral arterial tonometry is associated with abnormal ventricular-vascular coupling. Clin. Phys. Funct. Imag. 2010; 30 (5): 313–317.
12.Boutouyrie P., Tropeano A.I., Asmar R. Aortic stiffness is an independent predictor of primary coronary events in hypertensive patients. Hypertension. 2002; 39: 10–15.
13.Oliver J.J., Webb D.J. Noninvasive assessment of arterial stiffness and risk of atherosclerotic events. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2003; 23:554–566.
14.Vasan R.S., Levy D. Changes in arterial stiffness and wave reflection with advancing age in healthy men and women: the Framingham Heart Study. Hypertension. 2004; 43:1239–1245.
15.Mitchell G.F., Guo C.Y., Benjamin E.J., Larson M.G., Keyes M.J., Vita J.A., Vasan R.S., Levy D. Cross-sectional correlates of increased aortic stiffness in the community: the Framingham Heart Study. Circulation. 2007; 115:2628–2636.
16.Cavalcante J.L., Lima J.A., Redheuil A., AlMallah M.H. Aortic stiffness: current understanding and future directions. J. Am Coll. Cardiol. 2011; 57 (14): 1511–1522.
17.Laurent S., Boutouyrie P., Asmar R., Gautier I., Laloux B., Guize L., Ducimetiere P., Benetoset A. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. Hypertension. 2001; 37:1236.
18.Arnett D.K., Evans G.W., Riley W.A. Arterial stiffness: a new cardiovascular risk factor? Am J Epidemiol. 1994; 15:669–682.
19.Laurent S., Cockcroft J., Van Bortel L. On behalf of the European Network of Non-invasive Investigation of large Arteries. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical application. Eur. Heart J. 2006; 27:2588–2605.

АКУШЕРСТВО, ГИНЕКОЛОГИЯ

УДК: 636.234.1:636.034:636.2.034
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.318

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТА ЭСТРАЛЬНОЙ СЫВОРОТКИ КОРОВ ПРИ ДОБАВЛЕНИИ В СРЕДУ ДЛЯ ДОЗРЕВАНИЯ ООЦИТ-КУМУЛЮСНЫХ КОМПЛЕКСОВ *IN VITRO*

Шульгин И.К.* – асп. кафедры генетики, разведения и биотехнологии животных (ORCID 0000-0002-7652-966X); **Ротарь Л.Н. –** канд. биол. наук, доц. кафедры генетики, разведения и биотехнологии животных (ORCID 0000-0001-8151-7164); **Шульгина В.Д. –** асп. кафедры генетики, разведения и биотехнологии животных (ORCID 0000-0001-9538-493X).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет»

*ilya.shulgin@mail.ru

Ключевые слова: *in vitro, крупный рогатый скот, ооцит-кумулюсный комплекс, дозревание ооцитов, эстральная сыворотка крови.*

Key words: *in vitro, cattle, oocyte-cumulus complex, oocyte maturation, oestral blood serum.*

Поступила: 01.12.2023 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Получение эмбрионов сельскохозяйственных животных *in vitro* – это один из методов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), который может применяться как прижизненно, так и постмортально. Цель и задачи: провести исследование эффекта эстральной сыворотки крупного рогатого скота на мейотическое созревание ооцита крупного рогатого скота (КРС) и ранний эмбриогенез до развития бластоцист, при добавлении в среду для дозревания ооцит-кумулюсных комплексов (ОКК). Было проведено слепое рандомизированное контролируемое исследование по влиянию эстральной сыворотки крупного рогатого скота на развитие бластоцист при добавлении в среду для дозревания ОКК. Эстральную сыворотку получали из крови клинически здоровых коров с ярко выраженными признаками стадии возбуждения полового цикла. Исследование проводились в условиях промышленного животноводства при реализации коммерческого проекта в Вологодской и Рязанской областях. Материалом для исследования являлись ооцит-кумулюсные комплексы, полученные методом прижизненной аспирации от 89 коров голштинской породы с молочной продуктивностью более 10 тыс. кг. за лактацию. Ооцит - кумулюсные комплексы были разделены на 2 группы: 1 группа (контроль) – дозревание ооцитов проводилось в коммерческой среде IVM (производство Китай) без добавления эстральной сыворотки, 2 группа (опыт) – дозревание ооцитов проводилось в коммерческой IVM среде с добавлением эстральной

сыворотки в концентрации от 5 до 15%. Содержащиеся в эстральной сыворотке гормоны, ростовые факторы и биологически активные вещества не оказывают эффекта на достижение ОКК стадии метафазы II мейоза, а также на этапе дроблений, более того, прослеживается негативный эффект на этих стадиях развития. Однако содержащиеся в эстральной сыворотке вещества способны аккумулироваться в ОКК на стадии дозревания до метафазы II мейоза, при этом усиливая потенциал ооцитов к эмбриональному развитию и в дальнейшем положительно влиять на достижение ими стадии бластоцисты. Разница в образовании бластоцист от дробящихся эмбрионов достигает более 25%, а разница в образовании бластоцист от жизнеспособных ОКК, дозреваемых в средах без добавления сыворотки и модифицированных эстральной сывороткой составляет 37,5% в пользу последних.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Сохранение и преумножение существующего поголовья скота является важной стратегической задачей, которая обеспечивает продовольственную безопасность страны и нивелирует зависимость от импорта генетически ценных высокопродуктивных животных. Получение эмбрионов сельскохозяйственных животных *in vitro* – это один из методов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), который может применяться как прижизненно, так и постмортально. Благодаря технологии получения эмбрионов появляется возможность преумножать потомство от высокоценных в хозяйстве коров, чьих телят будут вынашивать менее ценные особи [1,2].

Метод получения эмбрионов *in vitro* включает: прижизненное или постмортальное извлечение из овариальных фолликулов ооцит – кумулюсных комплексов методикой фолликулярной аспирации или овариальной резекции, их последующее созревание до стадии метафазы II мейоза, оплодотворение *in vitro* и дальнейшее культивирование эмбрионов до стадии бластоцисты. Данный метод позволяет в короткие сроки оптимизировать селекционную работу с поголовьем за счёт большого количества потомков, полученных от высокопродуктивных особей [3].

Экстракорпоральное созревание ооцитов (*in vitro maturation*, IVM) — первый эмбриологический этап получения эмбрионов *in vitro* (*in vitro embryo production*, IVP). Исходная популяция ооцит-кумулюсных комплексов гетерогенна, поэтому состав среды для дозревания, состав газовой смеси, которые окружают ооциты вне организма, критически влияют на их качество и успех всех проведённых манипуляций, что делает данное направление объектом большого количества исследований и дискуссий [4-6].

Цель и задачи данного исследования: провести исследование эффекта эстральной сыворотки крупного рогатого скота на мейотическое созревание ооцита и ранний эмбриогенез до развития бластоцист, при добавлении в среду для дозревания ооцит-кумулюсных комплексов (ОКК).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / |MATERIALS AND METHODS

Было проведено слепое рандомизированное контролируемое исследование по влиянию эстральной сыворотки крупного рогатого скота на развитие бластоцист при добавлении в среду для дозревания ОКК. Эстральную сыворотку крови получали из крови клинически здоровых коров с ярко выраженными признаками стадии возбуждения эстрального цикла. Из яремной вены было получено 200 мл крови в стерильные пробирки объемом 50 мл. без добавления коагулянта. Далее пробирки с кровью отстаивались при комнатной температуре 20 часов до образования сгустка и отделения сыворотки. Сыворотку помещали в стерильные пробирки 10 мл и центрифугировали в течение 15 мин при 300G. После центрифугирования супернатант отбирали в стерильные пробирки 10 мл и инактивировали на водяной бане при температуре $+56^0$C в течение 30 мин. Затем сыворотка двукратно пропускалась через фильтр с диаметром пор 22μм, и готовили аликвоты в стерильные пробирки по 1 мл, которые храни-

лись при - 20^0C. Перед добавлением сыворотки в среду культивирования ее дефростировали при комнатной температуре.

Исследование проводились в условиях промышленного животноводства, в ходе реализации коммерческих пилотных проектов. Материалом для исследования являлись ооцит-кумулюсные комплексы, которые были получены методом прижизненной аспирации от 89 коров голштинской породы с молочной продуктивностью более 10 тыс. кг. за лактацию.

Прижизненную пункцию фолликулов выполняли с применением сакральной эпидуральной анестезии, с использованием OPU-системы (Бразилия) для крупного рогатого скота, ультразвукового сканера CHESON (Китай), адаптера для микроконвексного датчика (Россия), вакуумной помпы для аспирации (Бразилия). Аспирацию фолликулов проводили иглой диаметром 18G и длиной 55 мм. В качестве аспирационной жидкости использовали среду Дюльбеко с добавлением гепарина 400 МЕ, гентамицина 0,2 мл, BSA 1г, на 400,0 мл среды (Россия).

Полученные ОКК оценивали морфологически визуальным методом на пригодность к дальнейшему созреванию, денудированные ооциты (без слоя кумулюсных клеток) и ОКК с признаками дегенерации в работу не брали. Ооцит - кумулюсные комплексы были разделены на 2 группы: 1 группа (контроль, n=219 ОКК) – дозревание ооцитов проводилось в коммерческой среде IVM (Китай) без добавления эстральной сыворотки, ОКК, 2 группа (опыт, n =119 ОКК) – дозревание ооцитов проводилось в коммерческой IVM среде (Китай) с добавлением эстральной сыворотки. ОКК культивировали *in vitro* группами в каплях, под минеральным маслом, в течение 24 часов в среде для дозревания ооцитов с добавлением эстральной сыворотки коров голштинской породы в концентрации от 5 до 15%. Все этапы культивирования проводились в планшетном инкубаторе (производство Бразилия) в увлажненной газовой среде, при температуре 38.5^0C, состав мультигазовой смеси 5%O_2, 5% CO_2, 90%N_2. Далее ооциты оплодотворяли *in vitro*, размороженным на водяной бане при 36^0C 30 сек. сексированным семенем быков, обработанным в градиенте Percoll 90% и 45%. После оплодотворения, через 24 часа, проводили денудацию зигот, после чего осуществляли визуальную оценку дробления и раннего развития эмбрионов на 3 и 5 сутки культивирования *in vitro*. На 7-8 сутки образовавшиеся бластоцисты витрифицировались. Все манипуляции с гаметами и эмбрионами проводились в асептических условиях с применением культурального пластика прошедшего тест на эмбриотоксичность [7,8]. Статистическую обработку полученных данных, для оценки значимости различий в группах проводили с помощью пакета анализа Microsoft Office Excel 2019 с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

От 50 голов было получено 286 ОКК, из этого количества жизнеспособными и пригодными для IVM признано 219, которые дозревали в среде без добавления эстральной сыворотки коров (1 группа), и от 39 голов - 162 ОКК, жизнеспособными и пригодными для IVM признано 119, которые дозревали в среде с добавлением 10% эстральной сыворотки коров (2 группа). Во время аспирации в среднем на голову было получено 5,72 ОКК от первой группы коров и 4,15 ОКК от второй группы коров. Сразу после аспирации жизнеспособными и пригодными к дальнейшим этапам были признаны 219 ОКК в первой группе и 119 ОКК во второй группе. Результаты представлены в таблице 1.

Следующим важным шагом было дозревание ОКК до стадии метафазы II мейоза, в первой группе дозрели 74 ОКК, что составляет 33,8% от жизнеспособных ОКК, во второй группе 15 ОКК, что составляет 31,1% от жизнеспособных ОКК. Из них начали дробиться 46 зигот в первой группе (62,2%) и 15 зигот во второй группе (40,5%), наблюдаемые различия в исследуемых группах статистически значимы (уровень значимости t-критерия Стьюдента $p<0,05$). Из дробящихся эм-

брионов первой группы дозрели до стадии бластоцисты 15, что составляет 15,2% от общего числа дроблений, во второй группе – 9, что статистически достоверно (уровень значимости $p<0,05$). составляет 60% от общего числа дроблений.

Также было проведено сравнение влияния различной концентрации эстральной сыворотки коров на дозревание ОКК до стадии метафазы II. Оценивалась эффективность добавления в среду для IVM 5%, 10% и 15% эстральной сыворотки. На исходное качество ОКК, а также на количество жизнеспособных из них влияют многие причины, которые связанные с паратипическими факторами, которые ассоциированы с конкретной самкой (возраст, направление и уровень продуктивности, порода, физиологическое состояние, сбалансированность рациона, вакцинация, сезон года и др.). Однако, результат дозревания ОКК до стадии метафазы II мейоза, в том числе, зависит от состава культуральной среды, времени и условий культивирования. Жизнеспособные ооцит-кумулюсные комплексы, полученные в результате аспирации, в опытной группе случайным образом были разделены на группы, которые культивировались в среде для дозревания с добавлением сыворотки в разной концентрации. Результаты сравнения влияния концентрации сыворотки на дозревание ОКК до стадии метафазы II представлены в таблице 2.Несмотря на высокий процент жизнеспособных ОКК в группе, где в среду добавляли 5% эстральной сыворотки (80,65%), результат по достижению ОКК до стадии метафазы II оказался самым низким (20%). При добавлении в среду для созревания ОКК 10% эстральной сыворотки, достижение ОКК до стадии метафазы II возрастает до 26,44%. Самый высокий выход ОКК, достигших стадии метафазы II оказался в группе, где добавляли 15% эстральной сыворотки. Полученные нами данные согласуются с результатами исследований ряда авторов, которые показывают, что добавление эстральной сыворотки в среду для созревания ОКК оказывает больший эффект по

Таблица 1 - Оогенез и ранний эмбриогенез коров

Группа	OPU, n голов	n, ОКК	ОКК, среднее на голову	n,ОКК жизнеспособных (% от ОКК)	ОКК жизнеспособных,среднее на голову	MII (% от ОКК жизнеспособных)	дроблений (% от MII)	бластоцист (% от дроблений)
1. Среда дозревания ОКК без сыворотки (контроль)	50	286	5,72	219 (76,5)	4,38	74 (33,8)	46 (62,2)	7 (15,2)
2.Среда дозревания ОКК сыворотка (опыт)	39	162	4,15	119 (74,3)	3,05	37 (31,1)	15 (40,5)	9 (60,0)
Всего	89	448	-	338	-	111	61	16

Таблица 2 - Сравнение влияния концентрации сыворотки на дозревание ОКК до стадии метафазы II

Концентрация сыворотки, %	n, ОКК	n, ОКК жизнеспособных	% жизнеспособных ОКК	MII	% MII (от жизнеспособных ОКК)
5	31	25	80,65	5	20,00
10	239	174	72,80	46	26,44
15	22	17	77,27	7	41,18

сравнению с фетальной. По их данным, уровень дробления увеличивается в зависимости от концентрации сыворотки на 1,2-14,9%, а бластоцист – на 1,6-6,0 %. Это говорит о возрастании эффективности эстральной сыворотки с увеличением концентрации, т.к. растет концентрация стероидных и гонадотропных гормонов, а также аминокислот, благоприятно влияющих на развитие эмбриона [9, 10]. В частности, в период половой охоты уровень эстрадиола-17 β в крови у коров достигает до 21.42 пг/мл, [11, 12], а использование эстрадиола-17β во время выращивания культуры улучшает мейотическую и онтогенетическую компетентность ооцитов, способность к расширению кумулюса и прикрепление кумулюсных клеток к ооцитам [13-15].

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Содержащиеся в эстральной сыворотке гормоны, ростовые факторы и биологически активные вещества не оказывают эффекта на достижение ОКК стадии метафазы II мейоза, а также на этапе дроблений, более того, прослеживается негативный эффект на этих стадиях развития. Однако содержащиеся в эстральной сыворотке гормоны, ростовые факторы и биологически активные вещества способны аккумулироваться в ОКК на стадии дозревания до метафазы II мейоза, при этом усиливая потенциал ооцитов к эмбриональному развитию и в дальнейшем положительно влиять на достижение ими стадии бластоцисты. Разница в образовании бластоцист от дробящихся эмбрионов достигает более 25%, а разница в образовании бластоцист от жизнеспособных ОКК, дозреваемых в средах без добавления сыворотки и модифицированных эстральной сывороткой составляет 37,5% в пользу последних.

RESEARCH OF THE EFFECT OF ESTRAL SERUM OF COWS WHILE ADDING TO THE OOCYTE-CUMULUS COMPLEXES MATURATION MEDIUM *IN VITRO*

Shulgin I.K.* – postgraduate student of the Department of Genetics, Breeding and Biotechnology of Animals (ORCID 0000-0002-7652-966X); **Rotar L.N.** – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Genetics, Breeding and Biotechnology of Animals (ORCID 0000-0001-8151-7164); **Shulgina V.D.** – postgraduate student of the Department of Genetics, Breeding and Biotechnology of Animals (ORCID 0000-0001-9538-493X).

Saint-Petersburg State Agrarian University

*ilya.shulgin@mail.ru

ABSTRACT

Saving and multiplying the existing livestock population is an important strategic objective that ensures the country's food security and levelling the dependence on imports of genetically valuable highly productive animals. Obtaining farm animal embryos *in vitro* is one of the methods of assisted reproductive technologies (ART), which can be used both lifetime and post-mortem. This method allows to optimise breeding work with livestock in a short period of time due to the large number of offspring obtained from highly productive individuals. Aim and objectives: to investigate the effect of bovine estrous serum on meiotic oocyte maturation and early embryogenesis prior to blastocyst development, when added to oocyte-cumulus complexes (OCC) maturation medium. A blind randomised controlled trial was conducted on the effect of bovine estral serum on blastocyst development when added to OCC maturation medium. Estral serum was obtained from the blood of clinically healthy cows with pronounced signs of puberty. The study was carried out in conditions of industrial livestock breeding. The material for the study were oocyte-cumulus complexes obtained by the method of lifetime aspiration from 89 Holstein cows with milk productivity of more than 10 thousand kg per lactation. Oocyte-cumulus complexes were divided into 2 groups: Group 1 (control) - oocyte maturation was carried out in commercial IVM medium without addition of estrous serum, Group 2 (experiment) - oocyte maturation was carried out in commercial IVM medium with addition of es-

trous serum in concentration from 5 to 15%. The hormones, growth factors and biologically active substances contained in estrous serum have no effect on the achievement of OCC at the stage of metaphase II of meiosis, as well as at the stage of fractions; moreover, a negative effect at these stages of development can be traced. However, substances contained in estrous serum are able to saturate and accumulate in OCC at the stage of maturation to metaphase II of meiosis, thus enhancing the potential of oocytes to embryonic development and further positively affect their achievement of the blastocyst stage. The difference in the formation of blastocysts from crushed embryos reaches more than 25%, and the difference in the formation of blastocysts from viable JCCs matured in media without serum and modified with estrous serum is 37.5% in favour of the latter.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Рябова Т.Ф., Минаева Е.В., Юткина О.В. Перспективы воспроизводства в животноводческой отрасли в России // Пищевая промышленность, – 2018. №8. С. 49-51.

2.Robert B. Gilchrist, Jeremy G. Thompson Oocyte maturation: Emerging concepts and technologies to improve developmental potential in vitro // Theriogenology, – 2007, V. 67, I. 1, P. 6-15. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.09.027.

3.Шульгин, И. К. Сравнение методик выделения ооцит-кумулюсных комплексов из яичников животных после овариоэктомии / И. К. Шульгин, Л. Н. Ротарь, В. Д. Шульгина // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. – 2023. – № 2(71). – С. 114-120. – DOI 10.24412/2078-1318-2023-2-114-120.

4.Михайлова Н.Д. Дозревание ооцитов in vitro / Михайлова Н.Д., Мишиева Н.Г., Кириллова А.О., Мартазанова Б.А., Джинчарадзе Л.Г. // Акушерство и гинекология – 2021, – № 11. С. 64-70. DOI 10.18565/aig.2021.11.

5.Ali A., Benkhalifa M., Miron P., In-vitro maturation of oocytes: biological aspects // Reproductive BioMedicine, – 2006, V. 13, I. 3, P. 437-446. https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)61450-2.

6.Alberto Maria L. Marc-André S. Successful in vitro maturation of oocytes: a matter of follicular differentiation // Biology of Reproduction, – 2017, V. 98, I. 2, P. 162- 169. https://doi.org/10.1093/biolre/iox149.

7.Сметанина И.Г., Татаринова Л.В. Влияние сыворотки крови на созревание ооцитов и развитие эмбрионов крупного рогатого скота in vitro // Проблемы биологии продуктивных животных - 2018. №3. С. 45-53.

8.Сингина Г.Н., Шедова Е.Н. Дозревание ооцитов коров в среде fert-talp повышает их качество и компетентность к развитию in vitro // Сельскохозяйственная биология, - 2019, т.54, № 6. С. 1206-1213.

9.Голубец Л.В. Эффективность использования эстральной сыворотки в культуральных системах in vitro / Голубец Л.В., Старовойтова М.П., Отрощенко А. Е. // Зоотехническая наука Беларуси, - 2009.- т.44, №1. С. 37-44.

10.Ахмолдаева А. М. Созревание и оплодотворение in vitro ооцитов крупного рогатого скота при действии биологически активных веществ/А. М. Ахмолдаева, Н. И. Сергеев, И. А. Порфирьев // Сельскохозяйственная биология – 2003. – № 6. С. 58-65.

11.Голубец Л.В., Леткевич Л.Л., Ганджа А.И., Симоненко В.П. Эффективность использования энергетических и гормональных добавок при получении эмбрионов крупного рогатого скота вне организма / Голубец Л.В., Леткевич Л.Л., Ганджа А.И., Симоненко В.П.// Зоотехическая наука Беларуси, - 2003. - том 3. – С. 27-32.

12.Баковецкая О. В. Закономерности и механизм функционирования репродуктивной системы коров и кобыл в период эструса и разработка метода определения оптимального времени осеменения. Докторская диссертация, 2006, Рязань.

13.Naoko Kubo, Ilse Silvia Cayo-Colca. Effect of estradiol-17β during in vitro growth culture on the growth, maturation, cumulus expansion and development of porcine oocytes from early antral follicles. Ta-

kashi Miyano Anim Sci J. – 2015. - № 86(3). P. 251-259. DOI: 10.1111/asj.12283.
14.Beker 1, Colenbrander B, Bevers M. Effect of 17beta-estradiol on the in vitro maturation of bovine oocytes Theriogenology 2002 Dec;58(9). P. 1663-1673
15.Yon Soepri Ondho, Daud Samsudewa, Dela Ayu Lestari in vitro Maturation of Ovine Oocytes Using Follicle Stimulating Hormone (FSH), Estradiol-17β, and Co-Culture of Fallopian Tube Epithelial Cells (FTEC) in Tissue Culture Medium-199 (TCM-199) Int J Vet Sci, 2020, 9(1). P. 66-71.

REFERENCES

1.Ryabova Taisiya Fominichna, Minaeva Elena Vyacheslavovna, Yutkina Olga Vladimirovna Prospects for reproduction in the livestock industry in Russia // Food industry, - 2018. No. 8. pp. 49-51.
2.Robert B. Gilchrist, Jeremy G. Thompson Oocyte maturation: Emerging concepts and technologies to improve developmental potential in vitro // Theriogenology, – 2007, V. 67, I. 1, P. 6-15. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.09.027.
3.Shulgin, I.K. Comparison of methods for isolating oocyte-cumulus complexes from the ovaries of animals after ovariectomy / I.K. Shulgin, L.N. Rotar, V.D. Shulgina // News of the St. Petersburg State Agrarian University. – 2023. – No. 2(71). – pp. 114-120. – DOI 10.24412/2078-1318-2023-2-114-120.
4.Mikhailova N.D. Maturation of oocytes in vitro / Mikhailova N.D., Mishieva N.G., Kirillova A.O., Martazanova B.A., Dzhincharadze L.G. // Obstetrics and gynecology – 2021. - No. 11. P. 64-70. DOI 10.18565/aig.2021.11.
5.Ali A., Benkhalifa M., Miron P., In-vitro maturation of oocytes: biological aspects // Reproductive BioMedicine, – 2006, V. 13, I. 3, P. 437-446. https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)61450-2.
6.Alberto Maria L. Marc-André S. Successful in vitro maturation of oocytes: a matter of follicular differentiation // Biology of Reproduction, – 2017, V. 98, I. 2, P. 162- 169. https://doi.org/10.1093/biolre/iox149.
7.Smetanina I.G., Tatarinova L.V. The influence of blood serum on the maturation of oocytes and the development of cattle embryos in vitro // Problems of biology of productive animals - 2018. No. 3. pp. 45-53.
8.Singina G.N., Shedova E.N. Maturation of cow oocytes in fert-talp medium increases their quality and competence for development in vitro // Agricultural biology, - 2019, v. 54, no. 6. P. 1206-1213.
9.Golubets L.V. Efficiency of using estrous serum in in vitro cultural systems / Golubets L.V., Starovoitova M.P., Otroshchenko A.E. // Zootechnical Science of Belarus, - 2009.- v. 44, no. 1. P. 37-44.
10.Akhmoldaeva A. M. Maturation and in vitro fertilization of cattle oocytes under the influence of biologically active substances/ A. M. Akhmoldaeva, N. I. Sergeev, I. A. Porfiryev // Agricultural biology - 2003. - No. 6. P. 58-65.
11.Golubets L.V., Letkevich L.L., Gandzha A.I., Simonenko V.P. Efficiency of using energy and hormonal supplements when obtaining cattle embryos outside **the body /** Golubets L.V., Letkevich L.L., Gandzha A.I., Simonenko V.P. // Zootechnical Science of Belarus, - 2003. - Volume 3. – P. 27-32.
12.Bakovetskaya O. V. Patterns and mechanism of functioning of the reproductive system of cows and mares during estrus and the development of a method for determining the optimal time of insemination. Doctoral dissertation, 2006, Ryazan.
13.Naoko Kubo, Ilse Silvia Cayo-Colca. Effect of estradiol-17β during in vitro growth culture on the growth, maturation, cumulus expansion and development of porcine oocytes from early antral follicles. Takashi Miyano Anim Sci J. – 2015. - No. 86(3). P. 251-259. DOI: 10.1111/asj.12283.
14.Beker 1, Colenbrander B, Bevers M. Effect of 17beta-estradiol on the in vitro maturation of bovine oocytes Theriogenology 2002 Dec;58(9). P. 1663-1673
15.Yon Soepri Ondho, Daud Samsudewa, Dela Ayu Lestari in vitro Maturation of Ovine Oocytes Using Follicle Stimulating Hormone (FSH), Estradiol-17β, and Co-Culture of Fallopian Tube Epithelial Cells (FTEC) in Tissue Culture Medium-199 (TCM-199) Int J Vet Sci, 2020, 9(1). P. 66-71.

УДК: 916:615.273:618.36:636.1
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.325

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАРКЕРА ВИМЕНТИНА В ПЛАЦЕНТЕ КОРОВ В НОРМЕ И ПРИ ЗАДЕРЖАНИИ ПОСЛЕДА

Авдеенко В.С. * – д-р ветеринар. наук, проф. кафедры генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID 0000-0001-6154-275X); **Макавчик С.А**. – д-р ветеринар. наук, доц. кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии (ORCID 0000-0001-5435-8321); **Сафронов Д.И.** – канд. ветеринар. наук, доц. кафедры биологии, экологии и гистологии (ORCID 0000-0002-0803); **Моисеева К.А.** – асп. кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии (ORCID 0000-0003-4526-7430).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*avdeenko0106@mail.ru

Ключевые слова: *плацента, крупный рогатый скот, гистологические исследования, осложнение родового акта задержанием последа.*

Key words: *placenta, cattle, histological studies, complication of labor by retention of the afterbirth.*

Финансирование: *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда 23-26-00284, https://rscf.ru/project/23-26-00284/.*

Поступила:29.01.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Современные молочные предприятия несут финансовые убытки в виду высокой заболеваемости дойного стада после отела. В текущем исследовании представлено распределение внеклеточного матрикса соотношения мезенхимальных элементов плаценты у коров при физиологических и осложненных родах с задержанием последа. Ткани карункулов и котиледонов собирали каждые 6 часов после спонтанных родов до высвобождения плодных оболочек. В зависимости от времени высвобождения плодных оболочек после родов образцы были классифицированы следующим образом: 1 - контрольная группа, в которой плодные оболочки высвобождались в течение 6 часов после родов, считались завершёнными, спонтанными и физиологическими (Partus normalis); 2 - опытная группа, в которой плодные оболочки высвобождались через 9-12 часов после выведения плода, роды считали патологическими с задержанием последа (Retenzio sekundarium). Выявление изменений в содержании вимантин - содержащих элементов предполагает разработку системы экспресс-диагностики репродуктивных патологий у крупного рогатого скота молочного направления в родах и после отела. Образцы плаценты коров при физиологических родах, и задержанием последа подвергали стандартным гистологическим процедурам. Парафиновые срезы плаценты толщиной 5 мкм, монтировали на стекла, обработанные поли-L-лизином («Menzel»). С помощью иммуногистохимического и иммуно-

флуоресцентного окрашивания изучали иммунолокализацию антител к виментину используя клон EPR3776 (кроличьи, моноклональные, Тайвань, GeneTex, Int. Corp). Изучена локализация содержания промежуточных филаментов мезенхимального фенотипа в плаценте коровы при которой выявили присутствие большого количества мелких капилляров как в ворсинах котиледонов, так и в карункулярных криптах при беременности и родах в норме, а также равновесное соотношение мезенхимальных структур в плаценте. В родах, осложненных задержанием последа, продемонстрировано снижение васкуляризации ворсин хориона в котиледонах и деградация филаментов, участвующих в формировании клеточных контактов между цитотрофобластами ворсин хориона котиледонов фетальной части плаценты и эндотелио-, эпителиоцитами крипт карункулов материнской части плаценты. Выраженная экспрессия виментина была обнаружена в клетках, выстилающих крипты карункулов, а также в цитоплазматической мембране цитотрофобластов ворсин. Изучение соотношения мезенхимальных элементов с использованием иммунофлуоресцентного метода окрашивания антител к виментину показало, что значительное снижение их как в цитотрофобластах котиледонов, так и в эпителиоцитах карункулов наблюдается в плаценте коров при развитии состояния плацентарной недостаточности, приводящей к осложнению родов задержанием последа. Настоящее исследование предоставляет первые доказательства того, что виментин экспрессируется в плацентомах крупного рогатого скота в гестационный, предродовой и родовой периоды, и предполагает, что этот филамент возможно в сочетании со стериодогенными гомонами опосредует отделение плодной части плаценты от материнской.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В современных предприятиях по содержанию крупного рогатого скота молочного направления остро стоит проблема перинатальных заболеваний (аборты, гипотрофия плода, преждевременные роды) и патологических родов (мертворожденность, задержание последа, родильный парез, апикальный пролапсис матки), при которых патогенез остается малоизученным, а существующие подходы к профилактике и лечению этих заболеваний остаются симптоматическими [2, 6]. Несмотря на многочисленные публикации [8, 13], и первые научные предложения [14], в программы разведения некоторых молочных предприятий и племенных организаций внедрено использование экспресс-тестов осложненной беременности, патологических родов и репродуктивных заболеваний после отела. Однако, как полагают исследователи в области акушерства и гинекологии, [5] ни один из методов прогнозирования репродуктивных патологий не нашел широкого практического применения. Физиологические особенности обмена веществ у высокопродуктивного дойного стада регулируют формирование и реорганизацию плаценты, мезенхимальную трансформацию, что может способствовать гипотрофии плода, абортам, преждевременным родам, задержанию последа и репродуктивным патологиям, что в свою очередь может повлечь осложнения инфекционной природы [3]. Морфологические параметры определения степени развития плаценты по данным H. Li, H. Dai, J. Li, 2023 включают такие критерии, как «…иммуномодулирующие свойства мезенхимальных стромальных/стволовых клеток, связь с метаболизмом, митотический индекс и наличие выраженности фокусов апоптоза мезенхимальных клеток синцитиотрофобластов» [4]. Согласно современным представлениям, ангиогенез и мезенхимальная трансформация перехода клеток являются ключевыми факторами эмбриогенеза, которые непосредственно связанны с завершением гестационного процесса перед родами и во время родов. Эпителиально-мезенхимальная трансформация на последних сроках гестации перед родами и непосредственно в родах представляет собой сложный процесс, в результате которого неподвижные поляризованные эпителиальные клетки приобретают фенотип подвижных мезен-

химальных клеток. Этот процесс может наблюдаться как при физиологических и адаптационных состояниях, так и при патологии [5]. Клинические испытания по свидетельству U. Galderisi, Peluso G, Di G. Bernardo 2022, «…основанные на мезенхимальных стромальных клетках, растут в геометрической прогрессии» [11]. Поэтому необходимы дополнительные исследования плаценты [7, 10] с целью оптимизации диагностических подходов и понимание данной иммунолокализации виментина. Полученные результаты В. В. Делекторской и др., 2018 демонстрируют, что «…экспрессия виментина как маркера эпителиально-мезенхимального перехода играет важную роль в прогрессии карциноидных опухолей, поэтому может быть использована в диагностических целях, а также служить потенциальным параметром оценки прогноза гинекологических патологий и бесплодия» [1]. Кроме того, ряд исследователей [12] особо выделяет иммунный дефицит, повышение агрегации эритроцитов и тромбоцитов, изменение коагуляционных свойств крови, нарушение микроциркуляции с повреждением эндотелия капилляров, особенно в тканях формирующейся плаценты; эндокринной патологии - недостаточности, приводящей к нарушению маточно-плацентарного кровообращения и диффузно-перфузионной недостаточности плаценты. В наших предыдущих работах [3] при морфологических исследованиях материнской и плодной частей плаценты у коров с осложнением беременности токсикоз подобного состояния, обусловленного плацентарной недостаточностью, отмечаются сосудистые изменения с элементами застойной гиперемии, кровоизлияниями, появлением экстравазатов и дистрофических явлениях. Следует отметить, что, несмотря на тот факт, что ангиогенез и эпителиально-мезенхимальная трансформация активируются одними и теми же факторами плацентарного микроокружения [9, 11], в научной литературе недостаточно информации о том, какие типы сосудов плодовой части плаценты связаны с процессами эпителиально-мезенхимальной трансформации с сосудами материнской части плаценты, а какие нет. Учитывая, что оценка выраженности экспрессии виментина может быть использована для диагностики патологического состояния плодовой части плаценты, целью настоящего исследования явилось изучение особенностей экспрессии виментина и их корреляций с различными типами материнских сосудов эндометрия матки.

Цель – определить маркер виментина в плаценте коров в норме и при задержании последа. Основными задачами являлись: 1 - определить критерий изменений в плацентарных структурах коров при развитии состояния осложнения родового процесса, завершившиеся задержанием последа; 2 - провести иммуногистохимическое и иммунофлуоресцентное окрашивание промежуточных филаментов при спонтанных родах и завершившихся задержанием последа в родах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Лабораторные исследования проведены в условиях кафедр генетических и репродуктивных биотехнологий, биологии, экологии и гистологии и микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Иfисследованию подвергались плацента: карункулы, котиледоны как отдельно, так и всего плацентома, по 15 образцов от каждой плаценты (n=10). Исследуемый материал получен в высокотехнологичных молочных предприятиях Ленинградской области от животных в родах. В зависимости от времени высвобождения плодных оболочек после родов образцы были классифицированы следующим образом: 1 - контрольная группа, в которой плодные оболочки высвобождались из родовых путей в течение 9-12 часов после выведения плода, роды считали завершёнными, спонтанными и физиологическими (n=5); и 2 - опытная группа, в которой плодные оболочки высвобождались после 9-12 часов после выведения плода самостоятельно или жи-

вотному оказывалось медикаментозная, либо оперативная помощь, роды считали патологическими с задержанием последа (n=5). Ткани карункулов и котиледонов у животных контрольной и опытной отбирали у крупного рогатого скота голштинской породы, возраста от 3 до 5 лет, массой от 650 до 750 кг, с удоем от 11000 до 15000 литров за лактацию. Возраст и масса новорожденных соответствовали сроку гестации. Визуально отделившиеся последы соответствовали сроку созревания плаценты и продолжительности гестации.

Изготовление гистологических препаратов выполнялось по общепринятой методике с использованием световой микроскопии. Фиксацию изучаемого материла проводили в 10% нейтральном забуференном формалине HistoSafe (ООО «ЭргоПродакшн», Россия) в течение 24 часов. После фиксации осуществляли промывку органов в водопроводной воде, обезвоживание в дегидратирующем растворе Изопреп (ООО «ЭргоПродакшн», Россия) по возрастающей концентрации в нескольких сериях по 30 минут в каждом. Уплотнение материала проводили в двух сериях парафиновых сред Гистомикс (ООО «ЭргоПродакшн», Россия) по 50 минут. Гистологические срезы получали на ротационном микротоме «Ротмик-2» (ЗАО «Орион Медик», Россия) толщиной 5 мкм, которые впоследствии монтировали на предметные стекла и окрашивали стандартными методами для обзорного исследования (гематоксилином и эозином (ООО «ЭргоПродакшн», Россия) по общепринятым методикам. Изучение и фотографирование гистологических препаратов проводили с использованием светооптического микроскопа Микмед-5 ЛОМО (АО «Ломо», Россия) при разных увеличениях. Для выявления межклеточного вещества соединительной ткани использовали окраски по Вейгерту (на эластические волокна), по Маллори (на коллагеновые волокна), толуидиновым синим при pH 2,5 (на сульфатированные гликозаминогликаны) и pH 5,5 (на несульфатированные гликозаминогликаны), ШИК-реакцию (на гликопротеины). Образцы плаценты для иммуногистохимического исследования рассекли на фрагменты толщиной не менее 5 мм с общей площадью до 3 $см^2$ и фиксировали в нейтральном 10% забуферном формалине. Далее образцы карункулов и котиледонов подвергали стандартным гистологическим процедурам, до заключения их в парафиновую среду Histomix (Биовитрум»). Гистологические срезы получали на ротационном микротоме «Ротмик-2» (ЗАО «Орион Медик», Россия) толщиной 5 мкм, которые впоследствии монтировали на предметные стекла, обработанные поли-L-лизином («Menzel»). Использовали антитела к виментину (клон EPR3776 кроличьи, моноклональные, Тайвань, GeneTex, Int. Corp).

Постановку иммуногистохимических реакций проводили с помощью пероксидаза-полимерной системы визуализации согласно инструкции производителя (Lab Vision, Thermo). Для блокирования эндогенной пероксидазы срезы после депарафинизации инкубировали 20 минут в 3% перекиси водорода. Демаскировку антигена осуществляли путем кипячения срезов при 100ºС в цитратном буфере с pH=6,0 в течение 10 минут. Затем реакцию визуализировали с помощью хромогена 3-3- диаминобензидином из набора протокола. На заключительном этапе реакции срезы докрашивали гематоксилином Майера. Индексы пролиферации определяли по среднему проценту меченных ядер клеток на 100 просмотренных клеток при пересчёте на 1000 клеток и оценивались: отсутствие реакции, слабая реакция (менее 20% клеток), умеренная реакция (20-50% клеток) и выраженная реакция – более 50% клеток. Оценку пролиферативной активности производили путем подсчета удельного количества виментин-позитивных клеток к общему количеству клеток.

Парафиновые срезы образцов тканей толщиной 5 мкм, предназначенные для иммунофлуоресцентного окрашивания, монтировали на стекла, обработанные

поли-L-лизином (Menzel, Германия). Срезы после депарафинизации инкубировали в растворе глицина для снижения автофлуоресценции, фиксировали и окрашивали антителами, конъюгированными с флуорохромом, для идентификации следующих специфических клеточных популяций. Демаскировку антигена осуществляли путем кипячения срезов при 100 ºС в цитратном буфере с pH=6,0 в течение 10 минут. Затем стекла горизонтально помещали во влажную камеру, наносили 2 вида первичных антител (мышиные и кроличьи) и оставляли на ночь при температуре 4 °С. На следующий день стекла со срезами промывали в двух сменах 0,05 М Трис буфера по 20 минут. Инкубировали 1 час с вторичными антителами, конъюгированными с Alexa 594 (козьи-антикроличьи, Abcam).

Промывали буфером в общей сложности 30 минут. Далее на срезы наносили несколько капель заключающей среды.

При статистической обработке цифровых данных применяли пакет программ STATISTICA (StatSoft Inc., США, версия 7.0), которая адаптирована к ПК Microsoft Excel 2000 SPSS 10.0.5 for Windows.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате исследования среди клеток трофобласта в поле зрения регистрировали двуядерные клетки, наблюдаются участки миграции диплокариоцитов по направлению к криптам карункулов материнской плаценты. Количество диплокариоцитов на единицу площади в плаценте коровы при физиологически протекающих спонтанных родах составляло 8,5±2,1 и превышало число гигантских клеток на единицу площади у коров при осложненных патологических родах, завершившихся задержанием последа (2,8±0,84, p<0,001) (Таблица 1).

Локализация виментина в плацентарных структурах при физиологически протекающих спонтанных родах и при осложнении родов, завершившихся задержанием последа, свидетельствует о том, что в ворсинах хориона на единицу площади котиледона соединительная ткань выглядит уплотненной, содержит много волокнистых структур.

У коров при физиологически завершившихся спонтанных родах в структурах аллантохориона наблюдались различия в содержании коллагена между сосудами, отдельные локусы без коллагеновых волокон, умеренные реакции оболочек артерий и вен (рис. 1А).

В широких участках при осложнении беременности, завершившейся задержанием последа, регистрировали признаки гомогенизации коллагена, гетерогенные уровни фуксинофилии пучков коллагеновых волокон в различных зонах плаценты. В центральной части ворсин также выявляли иммунопозитивные к виментину клетки, формирующие стенки капилляров – эндотелиоциты (рис. 1Б).

На микропрепаратах плаценты (рис. 1 А, Б) виментин позитивные клетки определялись в количестве 12627±1328, а на срезах плацентом с физиологически протекающей беременностью их уровень составил 6289±251, что статистически достоверно и в среднем на 59,8% превышало значение данных в гистопрепаратах полученных плацентом от коров с осложненной беременностью.

Таблица 1 – Структурно-клеточная организация трофобластической выстилки карункулов и котиледонов в норме и патологии (сетка Автандилова, = 0,0073 мм)

Количество	Физиологически протекающие спонтанные роды	Осложнение родов завершившиеся задержанием последа
Диплокариоциты, кл/мм^2	8,5±2,13	2,8±0,84, p<0,001
Эпителио-эндотелиоциты, кл/мм^2	6,5±1,91	15,5±3,53, p<0,001

Таблица 2 – Показатели пролиферативной активности клеток в зоне плацентом, полученных иммуногистохимическим методом с антителами к белку виментина

Группы животных	Общее кол-во ядер клеток (M±m)	Общее кол-во виментин позитивных клеток	Индекс пролиферации, %
Физиологические роды завершившиеся, спонтанными родами (n=5)	8549±234	6289±251	65,8
Осложненные роды, завершившиеся, задержанием последа (n=5)	20147±1334, p≤0,001	12627±1328, p≤0,001	59,8

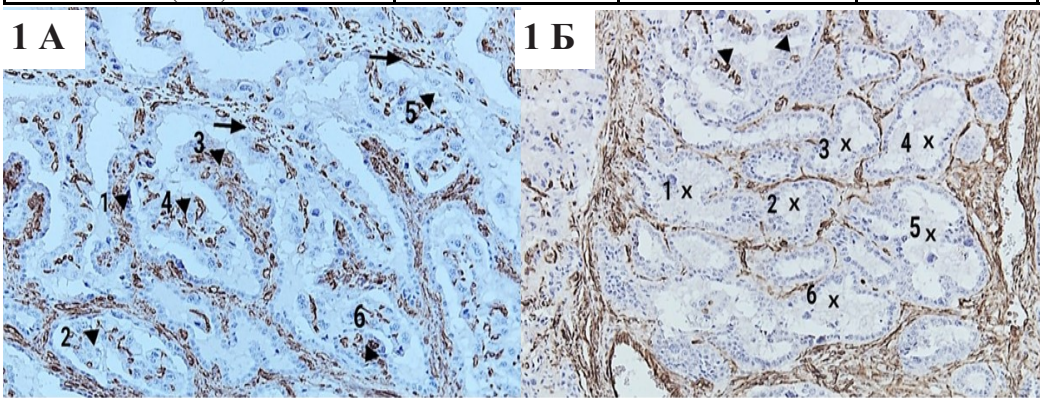


Рисунок 1А – Иммунолокализация антител к виментину при физиологически протекающих спонтанных родах. ПАП-метод. Окраска гематоксилином Майера. Общее увеличение 200. (Виментин-положительные структуры, входящие в состав маточных септ, а также формирующие строму ворсин хориона и стенки капилляров, отмечено стрелками).

Рисунок 1Б – Иммунолокализация антител к виментину при осложнении родов, завершившихся задержанием последа. ПАП-метод. Окраска гематоксилином Майера. Общее увеличение 200. (Редукция терминальных ворсин хориона (указано крестиками) и снижение васкуляризации оставшихся ворсин (показано стрелками).

Индекс виментина составил 65,8 % меченных ядер клеток. В ворсинах хориона слабую митотическую активность обнаруживали только в цитотрофобластах, менее 20%. При гистологическом анализе зоны плацентом на срезах общее количество ядер клеток цитотрофобластов составило 8549±234. На срезах плацентом полученных от коров с осложненными родами завершившейся задержанием последа, данный показатель составлял 20147±1334, что достоверно превосходило число клеток цитотрофобласта (Таблица 2).

Проведенная иммуногистохимическая реакция для обнаружения виментина подтвердила деградацию фибробластов, составляющих остов промежуточных и терминальных ворсин: в просвете крипт регистрировали только бесструктурные массы и небольшое количество макрофагоподобных клеток. В центральной части неизменных ворсин отмечали резкое снижение количества мелких капилляров (рис. 1Б), где происходила редукция терминальных ворсин хориона (указано крестиками) и снижение васкуляризации оставшихся ворсин (показано стрелками) в котиледоне.

Результаты изучения соотношения эпителиальных и мезенхимальных элементов с использованием иммунофлуоресцентного метода (рис. 2А) подтвердили, что значительное снижение цитокератиновых филаментов как в цитотрофобластах ворсинчатого котиледона, так и в эпителиоцитах карункулов наблюдаются в плаценте коров при развитии состояния осложнения родового процесса, завершившихся задержанием последа, по сравнению с физиологически протекающими родами, завершившихся спонтанным родовым процессом, (рис. 2А,Б).

При этом виментиновые филаменты также подвергались частичной деградации, что указывает на преждевременную деградацию внеклеточного матрикса.

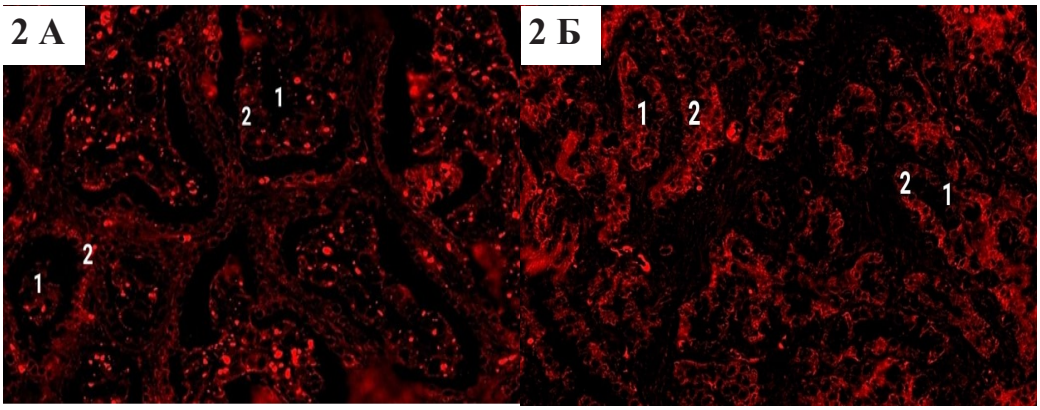


Рисунок 2А – Спонтанные роды. Локализация виментина в плацентарных структурах при физиологически протекающих родах. Выраженная экспрессия виментина (1– в ворсине хориона котиледона; 2 – в крипте карункула) в клетках выстилки маточных крипт, а также в цитотрофобластах ворсин хориона. Иммунофлуоресцентный метод. Общее увеличение ×400

Рисунок 2Б – Патологические роды. Локализация виментина в плацентарных структурах при осложнении родов задержанием последа. Слабая экспрессия на виментина (1– в ворсине хориона котиледона; 2 – в крипте карункула) и отсутствие реакции на эпителиальные филаменты в клетках выстилки маточных крипт. Иммунофлуоресцентный метод. Общее увеличение ×400

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Отмеченные нами изменения являются важным аспектом работы вследствие того, что плацента коров относится к десмохориальному типу. В работах В. Д. Новикова и др., 1992, показано: «…чем плотнее контакт образуется между плодной и материнской частью плаценты, тем лучше обеспечивается внутриутробное развитие плода» [2]. Кроме того, C. Castro, M. Diessler, C. Barbeito, C. Merkis, 2020 показали: «…диагностическую и прогностическую ценность иммунолокализации маркеров содержания промежуточных филаментов эпителиального и мезенхимального фенотипа в плаценте при осложнении беременности и родового процесса» [6]. В целом полученные данные в ходе проведения иммуногистохимической реакции окрашивания антигенов при осложнении беременности на последних сроках гестации и родового акта крупного рогатого скота согласуются с полученными данными у женщин [1]. Поэтому соотношение цитокератина и виментина можно использовать в качестве критерия изменений в плацентарных структурах коров при развитии состояния осложнения родового процесса, завершающегося задержанием последа [7, 11]. Результаты проведенного иммуногистохимического окрашивания промежуточ-

ных филаментов эпителиального и мезенхимального фенотипа в плаценте коров при физиологически протекающем родовом акте, завершившегося спонтанными родами, выявили присутствие мелких капилляров как в ворсинах котиледонов, так и в карункулярных криптах. С другой стороны, анализ мезенхимальных филаментов в плаценте коровы при осложнении родового процесса, завершившегося задержанием последа, продемонстрировал - снижение васкуляризации ворсин хориона в котиледонах. Настоящее исследование предоставляет первые доказательства того, что виментин экспрессируется в плацентомах крупного рогатого скота на последних сроках гестации и непосредственно в период выведения новорожденного из родовых путей, и предполагает, что этот филамент возможно в сочетании со стериодогенными гомонами опосредует отделение плодной части плаценты от материнской.

DETERMINATION OF THE MARKER OF THE EPITHELIAL-MESENCHYMAL FILAMENT VIMENTIN IN THE PLACENTA OF COWS DURING DETENTION OF THE ESTABLISHMENT

Avdeenko V.S. * – D.V.N., Professor of the Department of Genetic and Reproductive Biotechnologies (ORCID 0000-0001-6154-275X), **Makavchik S.A.** – D.V.N., Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology and Immunology (ORCID 0000-0001-5435-8321), **Safronov D.I.** – Ph.D., Associate Professor of the Department of Biology, Ecology and Histology (ORCID 0000-0002-0803), **Moiseeva K.A.** – Postgraduate student of the Department of Microbiology, Virology and Immunology (ORCID 0000-0003-4526-7430)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, St. Petersburg, Russia

*avdeenko0106@mail.ru

Financing: *The study was supported by the Russian Science Foundation grant 23-26-00284, https://rscf.ru/project/23-26-00284/.*

ABSTRACT

Modern dairy enterprises suffer financial losses due to the high morbidity of the dairy herd after calving. The current study presents the distribution of the extracellular matrix of the ratio of mesenchymal elements of the placenta in cows during physiological and complicated labor with retained placenta. Caruncle and cotyledon tissues were collected every 6 hours after spontaneous labor until the membranes were released. Depending on the time of release of membranes after birth, the samples were classified as follows: 1 - control group, in which the membranes were released within 6 hours after birth, considered complete, spontaneous and physiological (Partus normalis); 2 - experimental group, in which the membranes were released 9-12 hours after the fetus was delivered, the birth was considered pathological with retention of the placenta (Retenzio sekundarium). Identification of changes in the content of vimentin-containing elements involves the development of a system for express diagnostics of reproductive pathologies in dairy cattle during labor and after calving. Samples of placenta from cows undergoing physiological labor and placenta retention were subjected to standard histological procedures. Paraffin sections of the placenta, 5 μm thick, were mounted on glasses treated with poly-L-lysine (Menzel). Using immunohistochemical and immunofluorescence double staining, the immunolocalization of antibodies to vimentin was studied using clone EPR3776 (rabbit, monoclonal, Taiwan, GeneTex, Int. Corp). The localization of the content of intermediate filaments of the mesenchymal phenotype in the cow placenta was studied, in which the presence of a large number of small capillaries was revealed both in the villi of the cotyledons and in the caruncular crypts during normal pregnancy and childbirth, as well as the equilibrium ratio of mesenchymal structures in the placenta. In childbirth complicated by placenta retention, a decrease in the

vascularization of chorionic villi in the cotyledons and degradation of filaments involved in the formation of cellular contacts between the cytotrophoblasts of the chorionic villi of the cotyledons of the fetal part of the placenta and endothelial and epithelial cells of the crypts of the caruncles of the maternal part of the placenta were demonstrated. Pronounced expression of vimentin was found in the cells lining the crypts of caruncles, as well as in the cytoplasmic membrane of villous cytotrophoblasts. A study of the ratio of mesenchymal elements using the immunofluorescent method of double staining of antibodies to vimentin showed that a significant decrease in them both in the cytotrophoblasts of cotyledons and in the epithelial cells of caruncles is observed in the placenta of cows with the development of a state of placental insufficiency, leading to a complication of labor by retention of the placenta. The present study provides the first evidence that vimentin is expressed in bovine placentomes during the gestational, prenatal, and parturient periods and suggests that this filament may, in combination with steriodogenic homones, mediate the separation of the fetal placenta from the maternal placenta.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Делекторская В.В., Чемерис Г.Ю., Смирнова Е.А. Иммуногистохимический анализ аберрантной экспрессии виментина в карциноидных опухолях легкого. Успехи молекулярной онкологии 2018;5 (4):104–109. DOI: 10.17650/2313-805X-2018-5-4-104-109.

2.Новиков В.Д., Ясакова Н.Т., Авдеенко В.С., Машак С.В., Цыцорина Т.Н., Герасимова Ю.В. Эпителиостромальные взаимоотношения в котиледонной плаценте жвачных в нормальных и патологических условиях // Морфология. - 1992. - Л 1. - С. 97-103.

3.Приходько С. А., Родин П.В., Авдеенко В.С., Племешов К.В. Мормфогенез плаценты у крупного рогатого скота при эклампсии. // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2020, №1, С. 117-121.

4.Li H, Dai H, Li J. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal/ stemcells: The link with metabolism. J Adv Res (2023) 45:15–29. doi: 10.1016/ j.jare.2022.05.012

5.Tavares Farias S.F.S., Barbosa H.T.S., Xavier Júnior F.A.F., Monteiro Evangelista J.S.A., Machado da Silva L.D.. Macro and microscopic characteristics of the placenta and its relationship with the weight and the Apgar score of canine neonates. // Theriogenology. V.202, 2023, p. 21-27.

6.Castro C., Diessler M., Barbeito C., Merkis C. Caracterizacion del vascular y estúdio de la angiogenesis em la placenta de la gata. // Investigación Joven, 7 (2) (2020), pp. 453-454

7.G. Sarli, C. Castagnetti, C. Bianco, G. Ballotta, G. Tura, M. Caporaletti, D. Zambelli. Canine placenta histological findings and microvascular density: the histological basis of a negative neonatal outcome? // Animals, 11 (5) (2021), p. 1418, 10.3390/ani11051418

8.Tesi M., Miragliotta V., Scala, Aronica E., Lazzarini G., Fanelli D., Rota A., Abramo F. Gross and histological findings in the canine placenta and amnion at term: what's normal, abnormal or pathological? // Reprod Domest Anim, 56 (5), 2021, pp. 691-702, 10.1111/ rda.13905

9.Gomes M.T., Palasiewicz K., Gadiyar V., Lahey K., Calianese D., Birge R.B., et. al., Phosphatidylserine externalization by apoptotic cells is dispensable for specific recognition leading to innate apoptotic immune responses. J. Biol Chem (2022) 298 (7):102034. doi: 10.1016/j.jbc.2022.102034

10.Tesi M., Miragliotta V., Scala L., Aronica E., Lazzarini G., Fanelli D., Abramo F., Rota A. Relationship between placental characteristics and puppies' birth weight in toy and small sized dog breeds. // Theriogenology, 141. - 2020, pp. 1-8.

11.Galderisi U., Peluso G., Di Bernardo G. Clinical trials based on mesenchymalstromal cells are exponentially increasing: where are we in recent years? Stem Cell Rev Rep (2022) 18(1):23–36. doi: 10.1007/s12015-021-10231-w

12.Jiang P., Zhang Y., Ru B., Yang Y., Vu T., Paul R., et. al. Systematic investigation ofcytokine signaling activity at the tissue and

single-cell levels. Nat Methods (2021) 18 (10):1181–91. doi: 10.1038/s41592-021-01274-5
13.Calianese D.C., Birge R.B. Biology of phosphatidylserine (PS): basic physiol-ogyand implications in immunology, infec-tious disease, and cancer. Cell Commun Sig-nal (2020) 18(1):41. doi: 10.1186/s12964-020-00543-8
14.Reddoch-Cardenas K.M., Peltier G.C., Chance T.C., Nair P.M., Meledeo M.A., Ramasubramanian A.K, et. al. Cold storage of platelets in platelet additive solution maintains mitochondrial integrity. by limit-ing initiation of apoptosis-mediated path-ways. Transfusion (2021) 61(1):178–90. doi: 10.1111/trf.16185
15.Иммунофлуоресцентный анализ экс-прессии виментина в эпителиальных клетках / Т. А. Богуш, С. А. Калюжный, А. А. Башарина [и др.] // Вестник Москов-ского университета. Серия 2: Химия. – 2019. – Т. 60, № 6. – С. 384-391.

REFERENCES

1. Delektorskaya V.V., Chemeris G.Yu., Smirnova E.A. Immunohistochemical analy-sis of aberrant expression of vimentin in lung carcinoid tumors. Advances in Molecu-lar Oncology 2018;5(4):104-109. DOI: 10.17650/2313-805X-2018-5-4-104-109.
2. Novikov V.D., Yasakova N.T., Avdeenko B.C., Mashak C.B., Tsitsorina T.N., Gerasi-mova Yu.V. Epitheliostromal relationships in the cotiledon placenta of ruminants under normal and pathological conditions // Mor-phology. - 1992. - L 1. - p. 97-10Z.
3. Prikhodko S. A., Rodin P.V., Avdeenko V.S., Plemeshov K.V. Placental morphogen-esis in cattle with eclampsia. // Issues of reg-ulatory regulation in veterinary medicine. 2020, No. 1, pp. 117-121.
4.Li H, Dai H, Li J. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal/ stemcells: The link with metabolism. J Adv Res (2023) 45:15–29. doi: 10.1016/ j.jare.2022.05.012
5.Tavares Farias S.F.S., Barbosa H.T.S., Xavier Júnior F.A.F., Monteiro Evangelista J.S.A., Machado da Silva L.D.. Macro and microscopic characteristics of the placenta and its relationship with the weight and the Apgar score of canine neonates. // Theri-ogenology. V.202, 2023, p. 21-27.
6.Castro C., Diessler M., Barbeito C., Merkis C. Caracterizacion del vascular y estúdio de la angiogenesis em la placenta de la gata. // Investigación Joven, 7 (2) (2020), pp. 453-454
7.G. Sarli, C. Castagnetti, C. Bianco, G. Ballotta, G. Tura, M. Caporaletti, D. Zambelli. Canine placenta histological findings and microvascular density: the histological basis of a negative neonatal outcome? // Animals, 11 (5) (2021), p. 1418, 10.3390/ani11051418
8.Tesi M., Miragliotta V., Scala, Aronica E., Lazzarini G., Fanelli D., Rota A., Abramo F. Gross and histological findings in the canine placenta and amnion at term: what's normal, abnormal or pathological? // Reprod Domest Anim, 56 (5), 2021, pp. 691-702, 10.1111/ rda.13905
9.Gomes M.T., Palasiewicz K., Gadiyar V., Lahey K., Calianese D., Birge R.B., et. al., Phosphatidylserine externalization by apop-totic cells is dispensable for specific recogni-tion leading to innate apoptotic immune re-sponses. J. Biol Chem (2022) 298 (7):102034. doi: 10.1016/j.jbc.2022.102034
10.Tesi M., Miragliotta V., Scala L., Aroni-ca E., Lazzarini G., Fanelli D., Abramo F., Rota A. Relationship between placental characteristics and puppies' birth weight in toy and small sized dog breeds. // Theri-ogenology, 141. - 2020, pp. 1-8.
11.Galderisi U., Peluso G., Di Bernardo G. Clinical trials based on mesenchymalstromal cells are exponentially increasing: where are we in recent years? Stem Cell Rev Rep (2022) 18(1):23–36. doi: 10.1007/s12015-021-10231-w
12.Jiang P., Zhang Y., Ru B., Yang Y., Vu T., Paul R., et. al. Systematic investigation ofcytokine signaling activity at the tissue and single-cell levels. Nat Methods (2021) 18 (10):1181–91. doi: 10.1038/s41592-021-01274-5
13.Calianese D.C., Birge R.B. Biology of phosphatidylserine (PS): basic physiol-ogyand implications in immunology, infec-tious disease, and cancer. Cell Commun Sig-nal (2020) 18(1):41. doi: 10.1186/s12964-

020-00543-8
14.Reddoch-Cardenas K.M., Peltier G.C., Chance T.C., Nair P.M., Meledeo M.A., Ramasubramanian A.K, et. al. Cold storage of platelets in platelet additive solution maintains mitochondrial integrity. by limiting initiation of apoptosis-mediated pathways. Transfusion (2021) 61(1):178–90. doi: 10.1111/trf.16185
15. Immunofluorescent analysis of vimentin expression in epithelial cells / T. A. Bogush, S. A. Kalyuzhny, A. A. Basharina [et al.] // Bulletin of Moscow University. Episode 2: Chemistry. – 2019. – T. 60, No. 6. – P. 384-391.

УДК: 615.357:612.621.9:636.2
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.336

КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПОНИЖЕННЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ФСГ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ СУПЕРОВУЛЯЦИИ У ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ КОРОВ

Ачилов В.В.* – канд. ветеринар. наук, доцент кафедры генетических и репродуктивных биотехнологий; **Никитин Г.С.** – канд. ветеринар. наук, доцент кафедры генетических и репродуктивных биотехнологий.

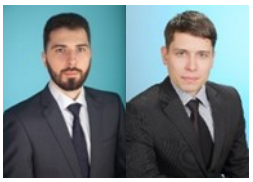
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* achilov.vadim@mail.ru

Ключевые слова: суперовуляция, коровы-доноры, эмбрионы in vivo, фолликулостимулирующий гормон.

Key words: superovulation, donor cows, in vivo embryos, follicle stimulating hormone.

Поступила: 01.03.2023 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024



РЕФЕРАТ

Целью проведенных исследований являлось обоснование использования пониженных концентраций фолликулостимулирующего гормона для индукции суперовуляции у высокопродуктивных коров и телок. Исследования были проведены в одном из хозяйства Ленинградской области. После анализа племенных карточек и на основании ультразвуковой визуализации репродуктивных органов были отобраны перспективные животные доноры эмбрионов – коровы после первого отела и телки, достигшие физиологической зрелости, голштинской породы. По принципу аналогов были сформированы группы подопытных животных I и II куда вошли коровы и группы III и IV куда вошли телки, по восемь и шесть животных соответственно. Для индуцирования множественной овуляции были использованы схемы гормональной обработки, представленные в таблице 1. Схемы гормональной обработки составлялись в соответствии с методическими рекомендациями по порядку и условиям применения метода трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота, а также в соответствии с результатами ранее проведенных исследований и анализом литературных источников. В результате проведенных исследований установлено, что все подопытные животные одинаково отреагировали на гормональную схему, рекомендованную производителем экзогенных гонадотропинов и экспериментальную схему, с пониженной концентрацией последних. Выявлено отсутствие достоверных отличий количества желтых тел в группах коров и телок при использовании стандартной схемы стимуляции полиовуляции и с пониженным содержанием фолликулостимулирующего гормона. По количеству полученных эмбрионов также не выявлено разницы между подопытными группами коров и телок. Анализируя полученные данные, можно сделать вывод о целесообразности использования пониженных концентраций гипофизарных гонадотропинов для стимуляции множественной овуляции у высокопродуктивных коров и телок.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Ускорение селекции высокопродуктивных животных невозможно без внедрения биотехнологических методов воспроизводства и контроля их воспроизводительной функции [1, 4]. Получение и трансплантация эмбрионов, методом in vivo включает в себя отбор выдающихся, по племенной ценности самок-доноров, стимуляцию суперовуляции, осеменение и последующий сбор эмбрионов для подсадки их животным-реципиентам, либо криоконсервации. Метод трансплантации эмбрионов, полученных in vivo, известен уже давно, но активное его внедрение тормозится трудностями проведения самой процедуры, дороговизной препаратов, используемых для вызывания суперовуляции у животных и сложностью прогнозирования положительного ответа яичников на гормональную стимуляцию [5]. Однако, несмотря на трудности, сопряженные с данным методом, исследования в этом направлении ведутся довольно активно [2, 3]. Стимуляция суперовуляции — это воздействие на организм коров-доноров биологически-активными веществами вследствие которого в яичниках сразу группа фолликулов начинает развиваться до предовуляторной стадии, а затем происходит множественная овуляция. Для запуска этого процесса большинство специалистов используют препараты ГСЖК (плацентарные гонадотропины) или ФСГ (гипофизарные гонадотропины). Несмотря на довольно высокую стоимость использование гипофизарных гонадотропинов является более предпочтительным ввиду отсутствия побочных эффектов. Дозировки используемых гонадотропинов у коров различны и зависят от физиологического статуса и породы. Для коров молочных пород общая, рекомендованная производителем, доза составляет 1000 ЕД, мясных пород 800 ЕД, для телок 500 ЕД. Однако большая индивидуальная изменчивость животных, подвергаемых гормональной стимуляции, оставляет открытым вопрос о минимально необходимом количестве гормональных препаратов необходимых для индукции множественной овуляции.

Целью исследований являлось клинико-экспериментальное обоснование использования пониженных количеств гипофизарных гонадотропинов для стимуляции множественной овуляции у высокопродуктивных коров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования были проведены в одном из хозяйства Ленинградской области. После анализа племенных карточек и на основании ультразвуковой визуализации репродуктивных органов были отобраны перспективные животные доноры эмбрионов – коровы после первого отела и телки, достигшие физиологической зрелости, голштинской породы. По принципу аналогов были сформированы группы подопытных животных I и II куда вошли коровы и группы III и IV куда вошли телки, по восемь и шесть животных соответственно. Для индуцирования множественной овуляции были использованы схемы гормональной обработки, представленные в таблице 1. Схемы гормональной обработки составлялись в соответствии с методическими рекомендациями по порядку и условиям применения метода трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота, а также в соответствии с результатами ранее проведенных исследований и анализом литературных источников.

Для стимуляции множественного роста и созревания фолликулов использовали препарат «Плюсет», в состав которого входят гипофизарные гонадотропные гормоны - фолликулосгимулирующий (ФСГ) и лютеинизирующий (ЛГ) 1000 ЕД на голову. Для синхронизации животных также использовали интравагинальные прогестероновые импланты CIDR insert, препараты «Ацегон» – синтетический гонадорелин и «Динолитик» синтетический аналог простагландина F2α. Для животных I и III групп использовали стандартные дозировки «Плюсета» рекомендованные производителем, и используемые для индукции суперовуляции. Для животных II и IV использовали схему с

Таблица 1 – Схемы гормональной обработки коров и телок

дни	0	4	6	7	8	9	11	18
Коровы	I опытная группа (стандартная концентрация ФСГ)							
	Введение CIDR	2 мл Ацегона	Двукратно ФСГ 3,0 мл	Двукратно ФСГ 2,5 мл	Двукратно ФСГ 2,0 мл	Двукратно ФСГ 1,5 мл, Извлечение CIDR, Динолитик 5 мл	Двукратное осеменение	Сбор эмбрионов
	II опытная группа (пониженная концентрация ФСГ)							
	Введение CIDR	2 мл Ацегона	Двукратно ФСГ 2,5 мл	Двукратно ФСГ 2,0 мл	Двукратно ФСГ 1,5 мл	Двукратно ФСГ 1,0 мл, Извлечение CIDR, Динолитик 5 мл	Двукратное осеменение	Сбор эмбрионов
Телки	III опытная группа (стандартная концентрация ФСГ)							
	Введение CIDR	2 мл Ацегона	Двукратно ФСГ 2,0 мл	Двукратно ФСГ 1,5 мл	Двукратно ФСГ 1,0 мл	Двукратно ФСГ 0,5 мл, Извлечение CIDR, Динолитик 5 мл	Двукратное осеменение	Сбор эмбрионов
	IV опытная группа (пониженная концентрация ФСГ)							
	Введение CIDR	2 мл Ацегона	Двукратно ФСГ 1,5 мл	Двукратно ФСГ 1,0 мл	Двукратно ФСГ 0,5 мл	Двукратно ФСГ 0,25 мл, Извлечение CIDR, Динолитик 5 мл	Двукратное осеменение	Сбор эмбрионов

понеженным содержанием ФСГ на 20% и 33% соответственно. Осеменение коров-доноров проводили цервикальным методом с ректальной фиксацией шейки матки в соответствии с «Приказом об утверждении условий применения биотехнологических методов искусственного осеменения племенных коров и телок». Извлечение эмбрионов проводили методом вымывания на 18 день после синхронизации половых циклов, руководствуясь методическими рекомендациями по порядку и условиям применения метода трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота [6]. Перед вымыванием эмбрионов, методом трансректальной пальпации, оценивали состояние яичников и подсчитывали количество желтых тел для учета реакции на воздействие экзогенными гонадотропинами. Поиск и оценку полученных эмбрионов проводили под бинокулярным микроскопом МБС-10. Определяли стадию развития эмбрионов, форму и целостность блестящей оболочки, отсутствие включений в перивителлиновом пространстве, характер дробления бластомеров и связь их друг с другом, состояние и однородность цитоплазмы.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты подсчета функциональных желтых тел, а также количества и качества полученных эмбрионов представлены в таблице 2.

Все животные, подвергнутые гормональной стимуляции, положительно на нее отреагировали. Качество реакции оценивали по количеству функциональных желтых тел на яичниках в момент осуществления процедуры вымывания эмбрионов. В I группе количество желтых тел составляло 7,25±1,66 шт., во II группе 7,12±1,45 шт. Достоверной разницы между показателями в группах коров не выявили. В группах III и IV количество желтых тел на яичниках у телок составило 7,50±1,04 и 7,33±1,75 шт. соответственно, также без достоверных различий. Отсутствие различий в сравниваемых группах позволяет предполагать об одинаковом влиянии исследуемых схем на результативность множественной овуляции. Желтые тела располагались на правых и левых яичниках, выступая за границы яичника пальпировались как плотные образования. Общее количество полученных эмбрионов составило в первой группе –

Таблица 2 – Результаты индукции суперовуляции и получения эмбрионов

Показатели	Коровы		Телки	
	Опытная группа I (ФСГ стандартная схема)	Опытная группа II (ФСГ в пониженной концентрации)	Опытная группа III (ФСГ стандартная схема)	Опытная группа IV (ФСГ в пониженной концентрации)
Количество животных, отреагировавших на схему/%	8/100	8/100	6/100	6/100
Количество желтых тел в среднем по группе	7,25±1,66	7,12±1,45	7,50±1,04	7,33±1,75
Получено эмбрионов всего	45	41	32	28
На донора	5,62±0,91	5,12±0,83	5,33±0,81	4,66±1,21
Дегенерированных эмбрионов всего	10	11	8	5
На донора	1,25±0,46	1,37±0,51	1,33±0,51	0,83±0,40

45 шт., во второй группе 41 шт., в третьей группе – 32 шт., в четвертой группе – 28 шт. Количество эмбрионов, в перерасчете на одного донора, составляло в I и II группах коров 5,62±0,91 шт. и 5,12±0,83 шт., а в III и IV группах телок 5,33±0,81 шт. и 4,66±1,21 шт. соответственно. Не смотря на возможность потери части эмбрионов в процессе эмбриосбора, количество полученных эмбрионов в опытных группах не имело достоверных различий, что подтверждает возможность использования схем с пониженной концентрацией фолликулостимулирующего гормона для индукции полиовуляции у коров и телок. После оценки качества полученных эмбрионов было подсчитано количество дегенерированных эмбрионов. Общее количество дегенерированных эмбрионов составило в первой группе – 10 шт., во второй группе 11 шт., в третьей группе – 8 шт., в четвертой группе – 5 шт. Количество дегенерированных эмбрионов, в перерасчете на одного донора, составляло в I и II группах коров 1,25±0,46 шт. и 1,37±0,51 шт., а в III и IV группах телок 1,33±0,51 шт. и 0,83±0,40 шт. соответственно. Достоверных различий по количеству дегенерированных эмбрионов в группах коров и телок выявлено не было.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате проведенных исследований установлено, что все подопытные животные одинаково отреагировали гормональную схему, рекомендованную производителем экзогенных гонадотропинов и экспериментальную схему, с пониженной концентрацией последних. Выявлено отсутствие достоверных отличий количества желтых тел в группах коров и телок при использовании стандартной схемы стимуляции полиовуляции и с пониженным содержанием фолликулостимулирующего гормона. По количеству полученных эмбрионов также не выявлено разницы между опытными группами коров и телок. Анализируя полученные данные, можно сделать вывод о целесообразности использования пониженных концентраций гипофизарных гонадотропинов для стимуляции множественной овуляции у высокопродуктивных коров и телок.

CLINICAL AND EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF THE USE OF REDUCED CONCENTRATIONS OF FSH DURING SUPEROVULATION IN HIGHLY PRODUCTIVE COWS

Achilov V. V.* – Candidate of Sciences. Veterinarian, Associate Professor of the Department of Genetic and Reproductive Biotechnologies; **Nikitin G. S.** – Candidate of Sciences. Veterinarian, Associate Professor of the Department of Genetic and Reproductive Biotechnologies.

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* achilov.vadim@mail.ru

ABSTRACT

The purpose of the studies was to substantiate the use of reduced concentrations of follicle-stimulating hormone to induce superovulation in highly productive cows and heifers. The research was carried out in one of the farms in the Leningrad region. After analyzing breeding cards and based on ultrasound visualization of the reproductive organs, promising animal embryo donors were selected - cows after the first calving and heifers that had reached physiological maturity, Holstein breed. According to the principle of analogues, groups of experimental animals I and II were formed, which included cows, and groups III and IV, which included heifers, eight and six animals each, respectively. To induce multiple ovulation, hormonal treatment regimens were used, presented in Table 1. Hormonal treatment regimens were compiled in accordance with methodological recommendations on the procedure and conditions for applying the method of cattle embryo transplantation, as well as in accordance with the results of previously conducted studies and analysis of literary sources. As a result of the studies, it was established that all experimental animals responded equally to the hormonal regimen recommended by the manufacturer of exogenous gonadotropins and the experimental regimen, with a reduced concentration of the latter. It was revealed that there were no significant differences in the number of corpora lutea in the groups of cows and heifers when

using a standard scheme for stimulating polyovulation and with a reduced content of follicle-stimulating hormone. There was also no difference between the experimental groups of cows and heifers in the number of embryos obtained. Analyzing the data obtained, we can conclude that it is advisable to use reduced concentrations of pituitary gonadotropins to stimulate multiple ovulation in highly productive cows and heifers.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Авдеенко, В. С. Контроль воспроизводительной способности у коров на молочных предприятиях / В. С. Авдеенко, Г. С. Никитин, В. В. Ачилов, В. А. Гальченко // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2023. – № 4(25). – С. 201-216.
2.Бригида, А. В. Прогнозирование эмбриопродуктивности коров-доноров на основании эхографической характеристики яичников / А. В. Бригида, В. И. Сорокин, С. Н. Ковальчук [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – Т. 53, № 4. – С. 753-761.
3.Мадисон, В. В. Трансплантация эмбрионов на службе животноводства / В. В. Мадисон, Л. В. Мадисон // Зоотехния. – 2005. – № 5. – С. 31-32.
4.Никитин, Г. С. Современные подходы при получении и криоконсервации эмбрионов крупного рогатого скота in vitro / Г. С. Никитин // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 3. – С. 192-205.
5.Сорокин, В. И. Результативность вымывания эмбрионов при индукции суперовуляции у коров-доноров / В. И. Сорокин, А. В. Бригида // Ветеринария и кормление. – 2018. – № 4. – С. 31-32.
6.Инструкции по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота / Всесоюзный научно-исследовательский институт животноводства. Госагропромиздат, 1987.

REFERENCES

1. Avdeenko, V. S. Control of reproductive ability in cows at dairy enterprises / V. S. Avdeenko, G. S. Nikitin, V. V. Achilov, V. A. Galchenko // Veterinary Pharmacological Bulletin. – 2023. – № 4(25). – Pp. 201-216.
2. Brigida, A.V. Forecasting the embryoproductivity of donor cows based on the echographic characteristics of the ovaries / A.V. Brigida, V. I. Sorokin, S. N. Kovalchuk [et al.] // Agricultural Biology. - 2018. – vol. 53, No. 4. – pp. 753-761.
3. Madison, V. V. Embryo transplantation in the service of animal husbandry / V. V. Madison, L. V. Madison // Zootechny. - 2005. – No. 5. – pp. 31-32.
4. Nikitin, G. S. Modern approaches to obtaining and cryopreservation of cattle embryos in vitro / G. S. Nikitin // International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2021. – No. 3. – pp. 192-205.
5. Sorokin, V. I. Effectiveness of embryo leaching during induction of superovulation in donor cows / V. I. Sorokin, A.V. Brigida // Veterinary medicine and feeding. - 2018. – No. 4. – pp. 31-32.
6. Instructions for bovine embryo transplantation / All-Union Scientific Research Institute of Animal Husbandry. Gosagropromizdat, 1987

УДК: 636.034:636.082
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.342

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *FGF2* С ЭКОНОМИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫМИ ПРИЗНАКАМИ КОРОВ ГОЛШТИНСКОЙ ПОРОДЫ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

Муханина Е.Н.[1] – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-9299-2104); **Сафина Н.Ю.**[1*] – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-1184-3188); **Шакиров Ш.К.**[1] – д-р. с.-х. наук, проф., гл. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-3362-0463); **Гайнутдинова Э.Р.**[1] – асп., науч. сотр. (ORCID 0000-0002-2970-1500); **Фаттахова З.Ф.**[2] – канд. биол. наук, асс. каф. кормления (ORCID 0000-0002-6083-2883).

[1]Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства ФГБУН ФИЦ КазНЦ РАН
[2]ФГБОУ ВО Казанская государственная академия ветеринарной медициныим. Н.Э. Баумана

[*]natysafina@gmail.com

Ключевые слова: *ген, аллель, полиморфизм, фактор роста фибробластов 2, FGF2, экономически значимые признаки.*

Key words: *gene, allele, polymorphism, fibroblast growth factor 2, FGF2, economical traits.*

Финансирование. *Статья написана в рамках государственного задания: Эколого-генетические подходы к созданию и сохранению ресурсов растений и животных, расширению их адаптивного потенциала и биоразнообразия, разработка сберегающих агротехнологий с целью повышения устойчивости производства высококачественной продукции, достижения безопасности для здоровья человека и окружающей среды. Номер регистрации: 122011800138-7.*

Поступила: 10.01.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Улучшение репродуктивных показателей дойных коров возможно за счет применения маркер-ассоциированной селекции. Ген *FGF2* является геном -кандидатом фертильности крупного рогатого скота, влияет на эмбриональное развитие плода и эмбриональную смертность. Исследование взаимодействия гена основного фактор роста фибробластов 2 (*FGF2* – SNP11646 [A → G]) и экономически значимых показателей проводилось на 270 полновозрастных коровах голштинской породы отечественной селекции в СХПК «племенной завод им. Ленина» Атнинского района Республики Татарстан. В наблюдаемой популяции наиболее распространен аллель *G* (0,591) и генотип *AG* (42,6%), генетическое равновесие, согласно закону Харди-Вайнберга сохранено. Критерий хи-квадрат Пирсона – вариабельности ожидаемого с

наблюдаемым распределением аллелей гена *FGF2* в исследуемой группе ниже критического (χ^2=3,84). Максимальную живую массу при первом плодотворном осеменении имели полновозрастные коровы, несущие гомозиготный аллель *A* по локусу гена *FGF2* – 435,5 кг, что выше, чем у поголовья с генотипом *GG*, – на 17,7 кг (4,2 %; $p < 0,01$). По индексу плодовитости Дохи установлен средний уровень в изучаемой популяции. Выявлено в ходе исследования, что уровень яловости, с высокой степенью достоверности, выше у особей с генотипом *AG* – 6,2 %, для этой же группы отмечен наиболее ранний возраст первого плодотворного осеменения. Высокий уровень яловости ведет к потерям молока у коров, гетерозиготных по локусу гена *FGF2*, превышая потери молока, наблюдаемые по генотипу *AA*, на 32,7 % ($p < 0,001$). Прослеживается обратная корреляция между высокой молочной продуктивностью и показателями воспроизводства крупного рогатого скота, оказывающая влияние на экономическую эффективность молочного скотоводства.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

При интенсивной селекции молочного скота большую роль играют полиморфизмы, ассоциированные с увеличением его продуктивности. Существует антагонистическая взаимосвязь между высокой молочной продуктивностью и фертильностью [5]. Именно поэтому важное значение имеют исследования влияния генетических факторов как на производство молока, так на и успешное оплодотворение, дальнейшее сохранение стельности и выход здорового поголовья телят [6].

Наряду с характеристиками продуктивности, при организации селекционно-племенных мероприятий немаловажно уделять внимание воспроизводительным качествам, так как потери, вызванные бесплодием и яловостью, оказывают серьезное влияние на экономическую составляющую отрасли животноводства [7].

Целенаправленный генетический отбор на получение высокой продуктивности коров приводит к нарушениям гормонального баланса и снижению интенсивности эстрального цикла, что, в свою очередь, способствует снижению плодовитости [17]. Но наследуемость фертильности низкая [9], и, следовательно, эффективность традиционного отбора ограничена [10, 11]. Таким образом, улучшение репродуктивных показателей дойных коров может быть реализовано за счет применения маркер-ассоциированной селекции.

Ген основного фактора роста фибробластов 2 (*FGF2*) экспрессируется на ранних сроках стельности [14]. *FGF2* является геном-кандидатом фертильности крупного рогатого скота [15] и вовлечен в паракринную передачу сигналов между разными типами клеток в фолликулах яичника [16], эмбриональное развитие плода [12] и летальность эмбрионов [13]. *FGF2* также известен как митогенный, морфогенный и ангиогенный фактор [15].

Некоторые исследователи предполагают, что *FGF2* является стимулятором эндометрия для плода на стадии развития эмбриона крупного рогатого скота. Проведенные исследования показали, что *FGF2* является слабым медиатором пролиферации трофэктодермы, но является сильным регулятором продукции IFNT (интерферон-τ) в клетках трофэктодермы и эмбрионах крупного рогатого скота на стадии бластоцисты. IFNT играет ключевую роль в регуляции экспрессии генов, участвующих в имплантации эмбриона, и в защите зародыша от отторжения материнским организмом [13]. Подобное действие *FGF2* было доказано Khatib и др. (2010) [12].

Цель нашего исследования – выявить взаимосвязь между полиморфизмом SNP11646 (A → G) в интроне 1 гена *FGF2* и экономически значимыми показателями коров голштинской породы отечественной селекции в Республике Татарстан.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования были проведены на коровах голштинской породы СХПК «Племзавод им. Ленина» Атнинского района Республики Татарстан в количестве 270 голов. Образцы крови были отобраны

с использованием вакуумных пробирок с ЭДТА-К3 (Apexlab, Китай). ДНК из биологического материала выделяли с использованием набора ДНК-Сорб В (АмплиПрайм, Россия), по инструкции, предоставленной производителем.

Полиморфизм гена *FGF2* определяли посредством полимеразной цепной реакции. Амплификацию подготовленной реакционной смеси с праймерами, разработанными X. Wang и соавторами (2008) [18], выполняли на термоциклерах «T-100 Thermal Cycler» и «MyCycler» (Bio-Rad, США). Модифицированный протокол ПЦР-ПДРФ и температурно-временные режимы адаптированы в условиях лаборатории отдела физиологии, биохимии, генетики и питания животных ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН с использованием отечественных реактивов в условиях импортозамещения [3].

Электрофоретичекое разделение было выполнено в 2,6 % агарозном геле в присутствии этидиума бромида (10 %). Выявленный полиморфизм визуализирован и задокументирован в системе «Gel&Doc» (Bio-Rad, США).

Частоту встречаемости аллелей и генотипов, соответствие закону генетического равновесия Харди-Вайнберга определяли по методике расчета биометрических данных, предложенной Е.К. Меркурьевой [1]. Значимость различий между наблюдаемыми и теоретически ожидаемыми частотами генотипов определяли с помощью критерия хи-квадрат (χ^2).

Данные о живой массе при проведении контрольных взвешиваний и репродуктивных качествах были взяты из информационно-аналитической системы «СЕЛЭКС. Молочный скот w9.3.0.0.» (АРМ Плинор, Россия).

Выход живых телят (ВТ) на 100 коров в год рассчитывали по формуле:

$$ВТ = (365 – СП) / 285 * 100,$$

где 365 – число дней в календарном году;

СП – продолжительность сервис-периода, дней;

285 – средняя продолжительность стельности, дней.

Коэффициент воспроизводительной способности (КВС) отражает плодовитость маточного поголовья крупного рогатого скота, рассчитан по формуле:

$$КВС = 365 / МОП,$$

где 365 – число дней в календарном году;

МОП – средний межотельный период, дней.

Индекс плодовитости коров (индекс Дохи) определен по следующей формуле:

$$Т = 100 – (К + 2 * МОП),$$

где К – возраст коровы при первом отеле, мес.;

МОП – средний межотельный период, мес.

Коэффициент яловости коров был выведен по формуле:

$$К = 1 – В_т / (365 * 100 / (285 + t_{сп})),$$

где $В_т$ – фактический выход телят от 100 коров, гол.;

365 – число дней в календарном году;

285 – средняя продолжительность стельности, дней;

$t_{сп}$ – продолжительность сервис-периода, дней.

Затем мы рассчитали по формуле, рекомендованной А.А. Павловым, потери молока, которые несет стадо по причине яловости:

$$Q_{пм} = У * 0,5 * К_я$$

где $Q_{пм}$ – потери молока от яловости, кг ;

У – удой молока в среднем по стаду за отчётный год, ц;

0,5 – постоянный коэффициент, характеризующий количественное соотношение между показателями выхода молока от неяловых и яловых коров;

$К_я$ – коэффициент яловости коров.

Уровень достоверности различий определен с использованием критерия *t*-Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

При осуществлении генотипирования нами были выявлены 3 генотипа гена *FGF2* – *AA* (19,6 %), *AG* (42,6 %) и *GG* (37,8 %). Определены аллели: *A* – частота встречаемости 0,409 и *G* –0,591 [3]. Распределение генотипов по гену *FGF2* в исследуемой популяции крупного рогато-

го скота (ожидаемых и наблюдаемых), определение степени соответствия показателей теоретически ожидаемого распределения генотипов, проводили согласно закону Харди-Вайнберга и критерия хи-квадрат [5]. По результатам проведенных вычислений изучаемая группа животных находится в генетическом равновесии, в то время как критерий согласия Пирсона, равный $\chi^2 = 3{,}84$, ниже критического значения ($\chi^2_{крит} = 5{,}99$). Из чего следует, что вариабельность ожидаемой частоты встречаемости близка к наблюдаемой.

По данным, полученным нами ранее, наибольшая молочная продуктивность была отмечена для коров с генотипом *AG* гена *FGF2*, так, наивысший удой за 305 дней лактации составил 7208,6 кг [2]. Коровы, имеющие генотип *GG* по гену *FGF2*, отличаются высоким содержанием жира в молоке – 3,57 %, но имеют наименьшую молочную. Особи, гомозиготные по гену *FGF2*, выгодно превосходят сверстниц по массовой доле белка в молоке – 3,46 % [2].

Ассоциация экономически значимых показателей с полиморфизмом гена *FGF2* представлена в таблице 1.

Наиболее ранний возраст первого плодотворного осеменения установлен для группы животных с генотипом *AG* гена *FGF2*. Разница по рассматриваемому показателю составила 0,9 месяца при сравнении генотипов *AA* и *GG* (3,8 %), и, при сравнивании генотипов *AA* и *AG* – 1,1 месяца (5,0 %; $p < 0{,}05$).

Максимальная живая масса при первом плодотворном осеменении наблюдалась у полновозрастных коров, имеющих гомозиготный аллель *A* в локусе гена *FGF - RasN I*, – 435,5 кг, что выше, чем у поголовья с генотипом *GG* на 17,7 кг (4,2 %; $p < 0{,}01$), с генотипом *AG* – на 10,7 кг (2,5 %). Такое же распределение генотипов по живой массе сохраняется при первом отеле – *AA* > *AG* > *GG*. Статистически значимое преобладание в живой массе наблюдается у особей, имеющих генотип *AA*, над животными с гомозиготным генотипом *GG* – 21,5 кг (4,1 %; $p < 0{,}05$).

Выявлено в ходе исследования, что уровень яловости, с высокой степенью достоверности, выше у особей с генотипом AG – 6,2 %, что на 1,6 % ($p < 0{,}001$) больше, в сравнении с генотипом AA гена FGF2. Индекс плодовитости Дохи, в целом, по изучаемой популяции имеет средний уровень. Немного выше данный показатель для гетерозиготных животных, к тому же, они имеют больший коэффициент воспроизводительной способности. Но следует отметить, что коровы с этим генотипом отличаются низким выходом телят на 100 коров.

Таблица 1 – Экономически значимые показатели

Показатель	Генотип		
	AA	*AG*	*GG*
Возраст 1 плодотворного осеменения, мес.	19,0±0,26*	18,1±0,30	18,3±0,31
Живая масса при 1 плодотворном осеменении, кг	435,5±5,9**	424,8±3,8	417,8±3,2
Живая масса при 1 отеле, кг	535,9±8,9*	523,2±4,8	514,4±5,5
Индекс плодовитости Дохи	46,8±0,5	47,3±0,5	46,7±0,5
Выход телят (ВТ)	85,7±2,3	82,5±1,8	85,2±1,6
Коэффициент воспроизводительной способности (КВС)	0,94±0,02	0,95±0,02	0,94±0,01
Яловость, %	4,7±0,06	6,2±0,09***	5,0±0,07
Потери молока, кг	164,2±5,8	217,9±7,0***	171,2±5,5
Потери молока, руб.	5868,5±100,8	7787,8±124,3***	6118,7±111,5

*Примечание: * - $p < 0{,}05$, ** - $p < 0{,}01$, *** - $p < 0{,}001$*

Как следствие, такой уровень яловости приводит к недополучению молока, что ведет к большим экономическим потерям. Потери молока у коров, гетерозиготных по гену FGF2, составляют 217,9 кг или 7787,8 рублей, превышая потери молока, наблюдаемые по генотипу АА на 32,7 % ($p < 0,001$).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Наибольшей живой массой при первом осеменении и при первом отеле выделяются коровы гомозиготные по аллелю *A* гена *FGF2*. Более раннее первое плодотворное осеменение наблюдается у группы животных с генотипом *AG* гена *FGF2*. Эта же гетерозиготная группа характеризуется высоким уровнем яловости. Наименьший уровень яловости, и как следствие, статистически значимые меньшие потери молока у особей генотипа *AA* гена *FGF2*.

Прослеживается обратная зависимость между высокой молочной продуктивностью и показателями воспроизводительной способности, что отражается на экономической эффективности молочной отрасли скотоводства.

ASSOCIATION OF *FGF2* GENE POLYMORPHISM WITH ECONOMICAL TRAITS OF HOLSTEIN COWS OF THE REPUBLIC OF TATARSTAN

Mukhanina E.N.[1] – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher (ORCID 0000-0001-9299-2104); **Safina N.Yu.**[1*] – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher (ORCID 0000-0003-1184-3188); **Shakirov Sh.K.**[1] – Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Chief Researcher (ORCID 0000-0002-3362-0463); **Gainutdinova E.R.**[1] – Graduate student, Researcher (ORCID 0000-0002-2970-1500); **Fattakhova Z.F.**[2] – Candidate of Biological Sciences, Assistant of the Department of Feeding (ORCID 0000-0002-6083-2883)

[1]Tatar Research Institute of Agriculture– Subdivision of the "Federal State Budgetary Institution of Science Federal Research Center «Kazan Scientific Center of Russian Academy of Sciences»", Kazan, Russian Federation

[2]Federal state budgetary educational institution of higher education "Kazan state academy of veterinary medicine named after N. E.Bauman", Kazan, Russian Federation

[*]natysafina@gmail.com

Financing: *The article was written within the framework of the state task: Ecological and genetic approaches to the creation and conservation of plant and animal resources, the expansion of their adaptive potential and biodiversity, the development of conservation agrotechnologies in order to increase the sustainability of high-quality products, achieve safety for human health and the environment. Registration number: 122011800138-7.*

ABSTRACT

Improving the reproductive functions of dairy cows may be possible through the use of marker-associated breeding. The *FGF2* gene is a candidate gene for bovine fertility, in early pregnancy and affects fetal embryonic development and embryonic mortality. The study of the interaction of the gene of the basic fibroblast growth factor 2 (*FGF2* – SNP11646 [A → G]) and economic indicators was carried out on 270 full-aged cows of Holstein population of indigenous selection of Breeding Farm Integrated Agricultural Production Center of the Republic of Tatarstan. In the observed population, the G allele (0.591) and the AG genotype (42.6%) are the most common, and the genetic balance, according to the Hardy-Weinberg law, is preserved. Pearson's consensus criterion is χ^2=3.84, respectively, the expected distribution of *FGF2* gene alleles in the study group coincides with the observed one. The maximum live weight at the first fruitful insemination was in full–aged cows carrying the homozygous allele *A* at the *FGF2* gene locus – 435.5 kg, which is higher than in livestock with the *GG* genotype – by 17.7 kg (4.2 %; $p < 0.01$). The Doha fertility index for the studied population is average. It was revealed during the study that the level of fertility, with a high degree of reliability, is higher in individuals with the *AG* genotype –

6.2%, for the same group the earliest age of the first fruitful insemination was noted. A high level of maleness leads to milk losses in cows heterozygous for the *FGF2* gene locus, exceeding milk losses observed for the *AA* genotype by 32.7 % ($p < 0.001$). There is an inverse correlation between high milk productivity and reproduction traits of cattle, which affects the economic efficiency of dairy production.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Меркурьева, Е. К. Генетика с основами биометрии / Е. К. Меркурьева, Г. Н. Шангин-Березовский // М.: Колос, 1983. – 400 с.

2.Муханина, Е. Н. Влияние гена основного фактора роста фибробластов (FGF2) на молочную продуктивность крупного рогатого скота голштинской породы / Е. Н. Муханина, Н. Ю. Сафина, Ш. К. Шакиров и др. // Международный вестник ветеринарии. – 2023. – № 3. – С. 267-274.– DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.3.267. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54805343.

3.Муханина, Е. Н. Полиморфизм гена фактора роста фибробластов 2 (FGF2) у крупного рогатого скота голштинской породы в условиях Республики Татарстан / Е. Н. Муханина, Н. Ю. Сафина, З. Ф. Фаттахова и др. // Аграрный научный журнал. – 2023. – № 8. – С. 79-82. – DOI 10.28983/asj.y2023i8pp79-82. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54354978.

4.Петухов, В.Л. Ветеринария генетика / В.Л. Петухов, А.И. Жигачев, Г.А. Назарова. – М.: Агропромиздат, 1996 – 384 с.

5.Сафина, Н. Ю. Влияние гена STAT5A на молочную продуктивность и репродуктивные качества голштинского скота / Н. Ю. Сафина, З. Ф. Фаттахова, Э. Р. Гайнутдинова и др.// Материалы национальной научно-практической конференции с международным участием, посвящённой памяти доктора технических наук, профессора Николая Владимировича Бышова. – 2022. – С. 352-357. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=50235427.

6.Сафина, Н. Ю. Экономические потери молока и выручки вследствие яловости коров с разными генотипами гена TNF-A / Н. Ю. Сафина, З. Ф. Фаттахова, Э. Р. Гайнутдинова и др. // Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. – 2022. – №4. – С. 216-221. – DOI 10.31588/2413_4201_1883_4_252_216. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=49843425.

7.Юльметьева, Ю. Р. Характеристика воспроизводительной функции коров голштинской породы в зависимости от их генетического потенциала / Ю. Р. Юльметьева, Ф. Ф. Зиннатова, Е. Н. Рачкова и др. // Достижения науки и техники АПК. – 2017. – Т. 31, № 9. – С. 48-51. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=30462598.

8.Dobson, H. Why is it getting more difficult to successfully artificially inseminate dairy cows? / H. Dobson, S. L.Walker, M. J. Morris et al. // Animal. – 2007. – V. 2. – P. 1104-1111. – DOI 10.1017/S175173110800236X.

9.Druet, T. Fine mapping of quantitative trait loci affecting female fertility in dairy cattle on BTA03 using a dense single-nucleotide polymorphism map / T. Druet, S. Fritz, M. Boussaha et al. // Genetics. – 2008. – V. 178. – P. 2227-2235. – DOI 10.1534/genetics.107.085035.

10.Guillaume, F. Refinement of two female fertility QTL using alternative phenotypes in French Holstein dairy cattle / F. Guillaume, M. Gautier, S. Ben Jemaa et al. // Animal Genetics. 2007. – V. 38. – P. 72-74. – DOI 10.1111/j.1365-2052.2006.01542.x.

11.Jackson, D. Fibroblast growth factor receptor signaling has a role in lobuloalveolar development of the mammary gland / D. Jackson, J. Bresnick, I. Rosewell et al. // Journal of Cell Science. – 1997. – V. 110. – P. 1261–1268. – DOI 10.1242/jcs.110.11.1261.

12.Khatib, H. Short communication: Validation of in vitro fertility genes in a Holstein bull population / H. Khatib, R. L. Monson, W. Huang et al. // Journal of Dairy Science. – 2010. – V. 93. – P. 2244-2249. – DOI 10.3168/jds.2009-2805.

13.Martial, J. Recent developments and potentialities for reducing embryo mortality in ruminants: the role of IFN-tau and other cytokines in early pregnancy / J. Martal, N. Chene, S. Camous et al. // Reproduction, fertility and development. – 1997. – V. 9. – P. 355-380. – DOI 10.1071/r96083.
14.Michael, D. D. Fibroblast growth factor-2 is expressed by the bovine uterus and stimulates interferon-τ production in bovine trophectoderm / D. D. Michael, I. M. Alvarez O. M. Ocón et al. // Endocrinology. – 2006. – V. 147. – P. 3571-3579. – DOI 10.1210/en.2006-0234.
15.Oikonomou, G. Effect of polymorphisms at the STAT5A and FGF2 gene loci on reproduction, milk yield and lameness of Holstein cows / G. Oikonomou, G. Michailidis, A. Kougioumtzis et al. // Research in Veterinary Science. – 2011. – V. 91. – P. 235-239. – DOI 10.1016/j.rvsc.2011.01.009.
16.Portela, V. M. Expression and function of fibroblast growth factor 18 in the ovarian follicle in cattle / V. M. Portela, M. Machado, Jr. J. Buratini et al. // Biology of Reproduction. – 2010. – V. 83. – P. 339-349. – DOI 10.1095/biolreprod.110.084277.
17.Royal, M. Strategies for reversing the trend towards subfertility in dairy cattle / M. Royal, G. E. Mann, A. P. Flint // The Veterinary Journal. – 2000. – V. 160. – P. 53-60. – DOI 10.1053/tvjl.1999.0450.
18.Wang, X. Association of bovine fibroblast growth factor 2 (FGF2) gene with milk fat and productive life: an example of the ability of the candidate pathway strategy to identify quantitative trait genes / X. Wang, C. Maltecca, R. Tal-Stein et al. // Journal of Dairy Science. – 2008. – V. 91. – P. 2475-2480. – DOI 10.3168/jds.2007-0877.

REFERENCES:

1.Merkureva, E. K, Genetics with the fundamentals of biometrics / E. K Merkureva, G. N Shangin-Berezovsky. – Moskow: Kolos. 1983:400. (In Russ.)
2.Mukhanina, E. N. Influence of the gene of the basic fibroblast growth factor (FGF2) on the dairy productivity of Holstein cattle / E. N. Mukhanina, N. Yu. Safina, Sh. K. Shakirov // International Bulletin of Veterinary Medicine.2023:3:267–274. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2023.3.267. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54805343 (In Russ.)
3.Mukhanina, E. N. Polymorphism of the fibroblast growth factor 2 (FGF2) gene in Holstein cattle in the conditions of the Republic of Tatarstan / E. N Mukhanina, N. Yu. Safina, Z. F. Fattakhova // Agrarian Scientific Journal.2023;8:79–82. – DOI 10.28983/asj.y2023i8pp79-82. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54354978 (In Russ.)
4.Petukhov, V.L. Veterinary genetics / V.L. Petukhov, A.I. Zhigachev, G.A. Nazarova. – M.: Agropromizdat, 1996 – 384 p. (In Russ.).
5.Safina, N. Yu. The influence of the STAT5A gene on dairy productivity and reproductive qualities of Holstein cattle / N. Yu. Safina, Z. F. Fattakhova, E. R. Gainutdinova // Materials of the national scientific and practical conference with international participation dedicated to the memory of Doctor of Technical Sciences, Professor Nikolai Vladimirovich Byshov.2022;1:352–357. – DOI 10.28983/asj.y2023i8pp79-82. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54354978 (In Russ.)
6.Safina, N. Yu. Economic losses of milk and deforestation as a result of cow huskiness with different genotypes of the TNF-a gene / N. Yu. Safina, Z. F. Fattakhova, E. R. Gainutdinova // Scientific Notes Kazan Bauman State Academy of Veterinary Medicine.2022;4:216–221. – DOI 10.31588/2413_4201_1883_4_252_216. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=49843425 (In Russ.)
7.Yulmetyeva, Yu. R. Characteristics of the reproductive function of Holstein cows depending on their genetic potential / Yu. R. Yulmetyeva, F. F. Zinnatova, E. N. Rachkova // Achievements of Science and Technology of AIC.2017;31(9):48–51. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=30462598 (In Russ.)
8.Dobson, H. Why is it getting more difficult to successfully artificially inseminate dairy cows? / H. Dobson, S. L. Walker, M. J. Mor-

ris // Animal.2007;2:1104–1111. – DOI 10.1017/S175173110800236X
9.Druet, T. Fine mapping of quantitative trait loci affecting female fertility in dairy cattle on BTA03 using a dense single-nucleotide polymorphism map / T. Druet, S. Fritz, M. Boussaha // Genetics.2008;178:2227–2235. – DOI 10.1534/genetics.107.085035.
10.Guillaume, F. Refinement of two female fertility QTL using alternative phenotypes in French Holstein dairy cattle / F. Guillaume, M. Gautier, S. Ben Jemaa // Animal Genetics.2007;38:72–74. – DOI 10.1111/j.1365-2052.2006.01542.x.
11.Jackson, D. Fibroblast growth factor receptor signaling has a role in lobuloalveolar development of the mammary gland / D. Jackson, J. Bresnick, I. Rosewell // Journal of Cell Science.1997;110:1261–1268. – DOI 10.1242/jcs.110.11.1261.
12.Khatib, H. Short communication: Validation of in vitro fertility genes in a Holstein bull population / H. Khatib, R. L. Monson, W. Huang // Journal of Dairy Science.2010;93:2244–2249. – DOI 10.3168/jds.2009-2805.
13.Martial, J. Recent developments and potentialities for reducing embryo mortality in ruminants: the role of IFN-tau and other cytokines in early pregnancy / J. Martial, N. Chene, S. Camous // Reproduction, fertility and development.1997;9:355–380. – DOI 10.1071/r96083.
14.Michael, D. D. Fibroblast growth factor-2 is expressed by the bovine uterus and stimulates interferon-τ production in bovine trophectoderm / D. D. Michael, I. M. Alvarez, O. M. Ocón // Endocrinology. 2006; 147:3571–3579. – DOI 10.1210/en.2006-0234.
15.Oikonomou, G. Effect of polymorphisms at the STAT5A and FGF2 gene loci on reproduction, milk yield and lameness of Holstein cows / G. Oikonomou, G. Michailidis, A. Kougioumtzis // Research in Veterinary Science.2011;91:235–239. – DOI 10.1016/j.rvsc.2011.01.009.
16.Portela, V. M. Expression and function of fibroblast growth factor 18 in the ovarian follicle in cattle / V. M. Portela, M. Machado, Jr. J Buratini // Biology of Reproduction.2010;83:339–349. – DOI 10.1095/biolreprod.110.084277.
17.Royal, M. Strategies for reversing the trend towards subfertility in dairy cattle / M. Royal, G. E. Mann, A. P. Flint // The Veterinary Journal.2000;160:53–60. – DOI 10.1053/tvjl.1999.0450.
18.Wang, X. Association of bovine fibroblast growth factor 2 (FGF2) gene with milk fat and productive life: an example of the ability of the candidate pathway strategy to identify quantitative trait genes / X. Wang, C. Maltecca, R. Tal-Stein // Journal of Dairy Science.2008;91:2475–2480. – DOI 10.3168/jds.2007-0877.

УДК: 611.013.11:619
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.350

СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ СПЕРМАТОЗОИДОВ БАРАНОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАБОРА SPERM BLUE И ОКРАШИВАНИЯ ПО РОМАНОВСКОМУ-ГИМЗЕ

Корочкина Е.А.* – д. ветеринар. наук, доц. кафедры генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID 0000-0002-7011-4594); **Финагеев Е.Ю.** – канд. ветеринар. наук, асс. кафедры генетических и репродуктивных биотехнологий; **Главацкая Д.Е.** – студ.; **Пушкина В. С.** – студ.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
*e.kora@mail.ru

Ключевые слова: *сперматозоиды барана, морфологическая оценка, набор Sperm Blue, окрашивание по Романовскому-Гимзе*

Key words: *ram spermatozoa, morphological assessment, Sperm Blue kit, Romanovsky-Giemsa staining*

Финансирование: *«Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00157, https://rscf.ru/project/23-26-00157/*

Поступила: 15.02.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ. Целью настоящего исследования являются апробация и сравнительная оценка методов морфологического исследования сперматозоидов баранов с использованием набора дифференцированного окрашивания Sperm Blue и окрашивания по Романовскому-Гимзе. Было проведено взятие и исследование спермы баранов породы Дорпер. Для проведения морфологической оценки сперматозоидов, полученные образцы (n=10) разводили в соотношении 1:100 (фосфатным буферным солевым раствором PBS). Для морфологической оценки сперматозоидов использовали два метода: набор дифференцированного окрашивания Sperm Blue (Microptic, экспозиция мазка в фиксаторе - 10 минут, в основном красителе – 18 минут) и окрашивание по Романовскому-Гимзе (экспозиция мазка в фиксаторе - 10 минут, в основном красителе – 20 минут). После рутинного окрашивания промывали мазки дистиллированной водой, высушивали и проводили микроскопию (увеличение с использованием объектива 100х10, иммерсионное масло) с последующим ручным методом подсчета количества морфологических форм сперматозоидов (200 сперматозоидов в каждом образце). Согласно результатам сравнительного анализа окрашенных мазков, окрашивание красителем Sperm Blue позволяет провести детальное морфологическое исследование и определить тератозооспермические характеристики сперматозоидов. При окрашивании по Романовскому-Гимзе нормальные сперматозоиды были четко видны, вместе с тем плохо визуализировалась акросома. Стоит отметить, что подсчет процента нормальных сперматозоидов вручную с использованием обоих красителей привел к одинаковому десятичному результату. Была обнаружена статистически незначимая разница в дефектах головки и хвоста между использованными красителями

(p = 0,41 и p = 0,77 соответственно): при окрашивании по Романовскому-Гимзе (7,8% и 34,1%) были обнаружены данные дефекты чаще, чем Sperm Blue (6,3% и 32,9%). Учитывая полученные результаты, актуальным является использование красителя Sperm Blue в ветеринарной андрологии, в частности для оценки морфологии сперматозоидов разных видов животных с дальнейшей разработкой соответствующих протоколов в аспекте длительности экспозиции самих мазков в основном красителе.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Многочисленными исследованиями доказано, что показателем воспроизводства является фертильность как самок, так и самцов-производителей [3,5]. Оплодотворяющая способность сперматозоидов – явление многофакторное, морфологическая структура в котором занимает ключевую позицию. Так, Chenoweth P. J. (2005). в своей работе отмечает, что акросомальные дефекты, дефекты головок и дефекты хвостов сперматозоидов способствуют безрезультативному оплодотворению [6]. Кроме того, исследованиями Peña Martínez A. I. (2004). Доказана взаимосвязь низкого содержания цитоплазматических капель в хвостах сперматозоидов и ухудшения плодовитости самцов [9]. В ветеринарной практике наиболее часто используемым инструментом анализа подвижности и морфологии сперматозоидов является ручная оценка [8]. Этот классический подход требует времени и ограничен опытом практикующего специалиста. На сегодняшний день основными универсальными красителями, имеющими широкое распространение в ветеринарной андрологии, являются набор быстрого дифференцированного окрашивания Diff-Quick [4,7], а также окрашивание по Романовскому-Гимзе [1]. В медицине также достаточно широко используется набор дифференцированного окрашивания сперматозоидов Sperm Blue [10]. В связи с этим, целью настоящего исследования является апробация и сравнительная оценка методов морфологического исследования сперматозоидов баранов с использованием набора дифференцированного окрашивания Sperm Blue и окрашивания по Романовскому-Гимзе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование было проведено в научно-образовательной лаборатории по трансплантации эмбрионов животных на базе ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины». Было проведено взятие и исследование спермы баранов породы Дорпер. Отбор проб был произведен с помощью искусственной вагины модели IMV (Франция) согласно ГОСТ32222–2013 [2]. Для проведения морфологической оценки сперматозоидов, полученные образцы (n=10) разводили в соотношении 1:100 (фосфатным буферным солевым раствором PBS). Изготовление мазка проводили по стандартной методике [1]. Мазки, окрашенные красителями Sperm Blue (Microptic) и по Романовскому-Гимзе отражены на рисунке 1.

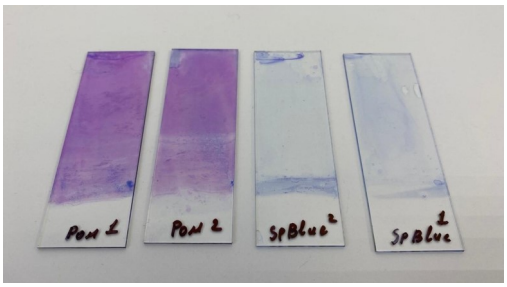


Рисунок 1 – Окрашенные мазки (красители Sperm Blue (Microptic)) и по Романовскому-Гимзе).

Для морфологической оценки сперматозоидов использовали два метода: набор дифференцированного окрашивания Sperm Blue и окрашивание по Романовскому-Гимзе. Краситель Sperm Blue (Microptic) разработан для дифференцированного окрашивания всех компонентов сперматозоида (акросомы, головки, шейки и хвоста) в разные интенсивности синего цвета. Набор включает: 1 – фиксатор; 2 – основной краситель (Sperm Blue); экспозиция мазка в фиксаторе составляет 10 минут, в основном красителе – 18 ми-

нут. При окрашивании по Романовскому-Гимзе проводили фиксацию мазков с дальнейшим погружением в краситель азур-эозин (ТУ 9398-003-29508133-2011) в течение 20 минут. После рутинного окрашивания промывали мазки дистиллированной водой, высушивали и проводили микроскопию (увеличение с использованием объектива 100х10, иммерсионное масло) с последующим ручным методом подсчета количества морфологических форм сперматозоидов (200 сперматозоидов в каждом образце).

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

При проведении исследований, оба красителя были успешно применены для ручного анализа морфологии сперматозоидов баранов.

Визуализация полученных мазков показана на рисунке 2 и 3.

Результаты сравнительной морфологической оценки сперматозоидов отражены на рисунках 4 и 5.

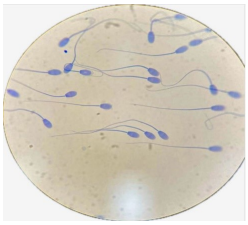


Рисунок 2 – Окрашивание красителем Sperm Blue.

Рисунок 3 – Окрашивание по Романовскому-Гимзе.

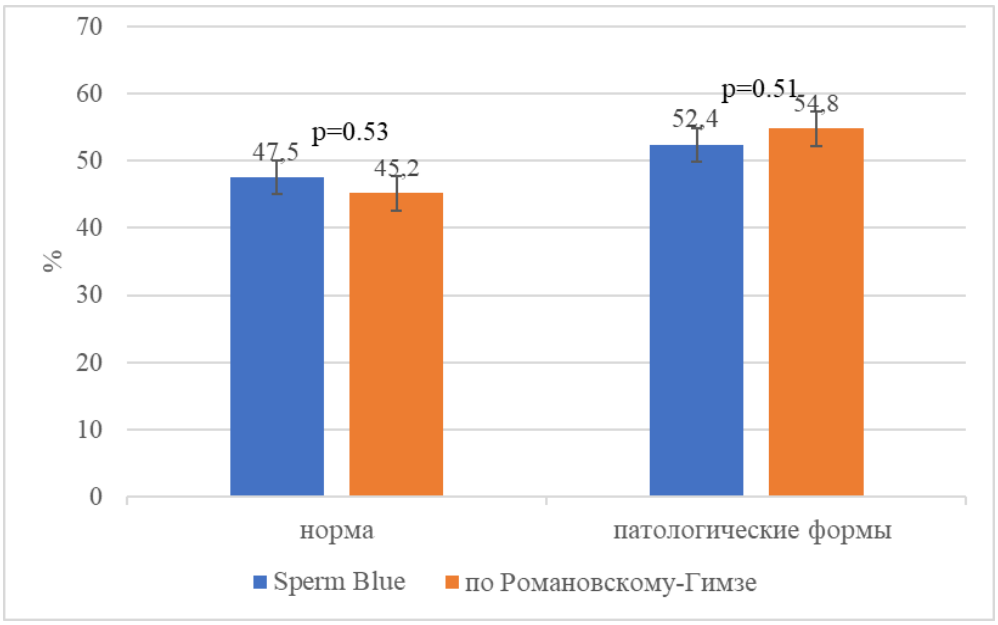


Рисунок 4 – Результаты сравнительной морфологической оценки сперматозоидов (n=10).

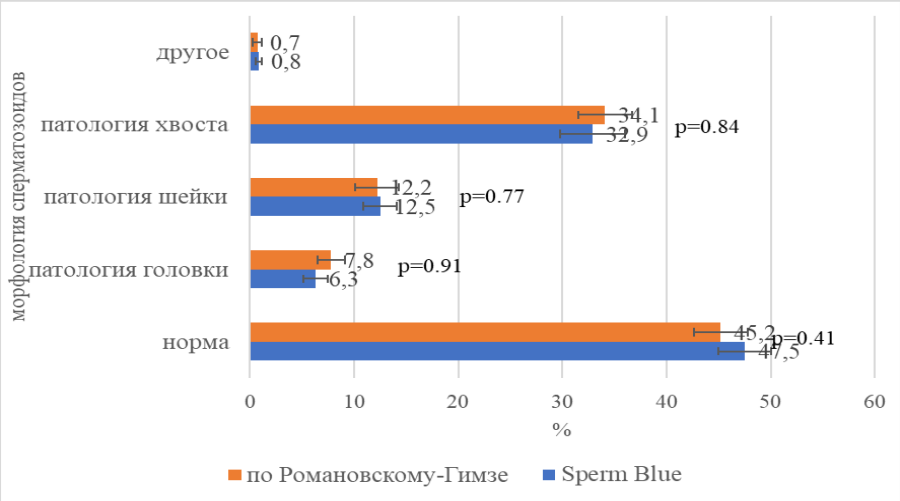


Рисунок 5 – Сравнительная оценка морфологической структуры сперматозоидов баранов (n=10) с использованием красителей Sperm Blue и по Романовскому-Гимзе.

Согласно данным рисунка 4, оба красителя позволяют определить количество морфологически нормальных и патологических форм сперматозоидов. При этом количество нормальных сперматозоидов было больше при анализе мазков, окрашенных красителем Sperm Blue, разница значений не явилась статистически значимой.

Согласно данным рисунка 5, окрашивание красителем Sperm Blue позволяет провести детальное морфологическое исследование и определить тератозооспермические характеристики сперматозоидов. При окрашивании по Романовско-Гимзе нормальные сперматозоиды были четко видны, вместе с тем плохо визуализировалась акросома. Стоит отметить, что подсчет процента нормальных сперматозоидов вручную с использованием обоих красителей привел к одинаковому десятичному результату. Была обнаружена статистически незначимая разница в дефектах головки и хвоста между использованными красителями (p = 0,41 и p = 0,77 соответственно): при окрашивании по Романовскому-Гимзе (7,8% и 34,1%) были обнаружены данные дефекты чаще, чем Sperm Blue (6,3% и 32,9%).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, набор дифференцированного окрашивания Sperm Blue позволяет провести морфологическую оценку сперматозоидов баранов с полной дифференцировкой тератозооспермических характеристик. При этом длительность экспозиции мазка в основном красителе, равная 18 минутам (для баранов), позволяет дифференцировать акросому сперматозоидов. Окрашивание мазка по Романовскому-Гимзе позволяет провести рутинный морфологический анализ, без детальной оценки целостности акросомы сперматозоидов. В связи с этим, актуальным является использование красителя Sperm Blue в ветеринарной андрологии, в частности для оценки морфологии сперматозоидов разных видов животных с дальнейшей разработкой соответствующих протоколов в аспекте длительности экспозиции самих мазков в основном красителе.

COMPARISON OF STAINING TECHNIQUES ON THE MANUAL RAM SPERM MORPHOLOGY ANALYSIS BY SPERM BLUE AND ROMANOVSKY-GIMZE

Korochkina E. A.* - PhD. In Veterinary

science, Associate Professor, Department of Genetic and Reproductive Technologies (ORCID 0000-0002-7011-4594); **Finageev E. Y.** – PhD. In Veterinary sciences, Assistant, Department of Genetic and Reproductive Technologies; **Glavatskaya D. E.** – student; **Pushkina V. S.** – student.

St. Petersburg state university of veterinary medicine

*e.kora@mail.ru

Financing: *The study was supported by a grant from the Russian Science Foundation№ 23-26-00157, https://rscf.ru/project/23-26-00157/*

ABSTRACT

The purpose of this study is to test and comparatively evaluate the method of morphological examination of ram sperm using a differentiated staining Sperm Blue and Romanovsky-Giemsa staining. The sperm of Dorper rams was collected and examined. The obtained samples (n=10) were diluted in a ratio of 1:100 (PBS solution) to conduct a morphological assessment of sperm. Two methods were used for the morphological assessment of spermatozoa: a set of differentiated staining Sperm Blue (Microptic, exposure of the smear in the fixative - 10 minutes, in the main dye - 18 minutes) and Romanovsky-Giemsa staining (exposure of the smear in the fixative - 10 minutes, in the main dye – 20 minutes). After routine staining, the smears were washed with distilled water, dried, and microscopy was performed (magnification using a 100x10 immersion objective, oil immersion), followed by a manual method of counting the number of morphological forms of sperm. According to the results of a comparative analysis of stained smears, staining with Sperm Blue allows for a detailed morphological study and differentiation of teratozoospermic characteristics. When stained with Romanovsky-Giemsa, normal spermatozoa were clearly visible, but the acrosome was poorly visualized. Manual calculation of the percentage of normal sperm using both dyes resulted in the same decimal result. A statistically insignificant difference in head and tail defects was found between the dyes used (p = 0.41 and p = 0.77, respectively): Romanovsky-Giemsa staining (7.8% and 34.1%) detected these defects more often than Sperm Blue (6.3% and 32.9%). Considering the results obtained, the use of the Sperm Blue dyes dye in veterinary andrology is relevant, in particular for assesment the morphology of sperm of different animal species with the further development of appropriate protocols in terms of the duration of exposure of the smears themselves to the main dye.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Баженова, Н. Б. Оценка качественных показателей спермы животных: учебно-методическое пособие / Н. Б. Баженова, К. В. Племяшов, Е. А. Корочкина. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2023. – 25 с. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54902245

2. ГОСТ 32222–2013.Средства воспроизводства. Сперма. Методы отбора проб. – Веден 2015-01-27. – М.: Стандартинформ, 2018. – 10 с.

3. Корочкина, Е. А. Репродуктивная способность самцов в условиях стресса и методы ее коррекции: Учебно-методическое пособие / Е. А. Корочкина, Е. Ю. Финагеев, В. В. Никитин. – Санкт-Петербург: ООО "Издательство "ЛЕМА", 2023. – 31 с. – ISBN 978-5-00105-861-8.

4. Корочкина, Е. А. Оценка морфологии сперматозоидов баранов с помощью набора быстрого дифференцированного окрашивания Диахим-Дифф-Квик / Е. А. Корочкина, Е. Ю. Финагеев, М. М. Ивановская // Ветеринария. – 2023. – № 7. – С. 38-42. – DOI 10.30896/0042-4846.2023.26.7.38-42. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54146135

5. Способы подготовки самцов-пробников и использование их в репродуктивной биотехнологии: Учебно-методическое пособие для вузов / К. В. Племяшов, Е. Ю. Финагеев, Е. А. Корочкина [и др.]. – Санкт-Петербург: Изда-

тельство Лань, 2023. – 52 с. – (Высшее образование). – ISBN 978-5-507-46892-8.
6. Chenoweth, P. J. (2005). Genetic sperm defects. Theriogenology, 64(3), 457–468. 10.1016/
J.THERIOGENOLOGY.2005.05.005
7. Farias L.B. Comparison of Diff-Quick and Spermac Staining Methods for Sperm Morphology Evaluation / L.B. Farias, da Cunha Barreto-Vianna AR, de Mello MD, Dos Santos AL, da Fonte Ramos C, Fontoura P. J Reprod Infertil. 2023 Jul-Sep;24(3):166-170. doi: 10.18502/jri. v24i3.13272. Режим доступа: https:// pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37663429/
8. Kolster, K. A. (2018). Evaluation of canine sperm and management of semen disorders. Veterinary Clinics of North America – Small Animal Practice, 48(4), 533–545. 10.1016/j.cvsm.2018.02.003. Режим доступа: https:// pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29678334/
9. Peña Martínez, A. I. (2004). Canine fresh and cryopreserved semen evaluation. Animal Reproduction Science, 82–83, 209–224. 10.1016/J.ANIREPROSCI.2004.04.024. Режим доступа: https:// www.sciencedirect.com/science/article/pii/ S0378432004000788
10. Van der Horst G. SpermBlue: a new universal stain for human and animal sperm which is also amenable to automated sperm morphology analysis / G. Van der Horst, L. Maree Biotech // Histochem. 2009 Dec;84 (6):299-308.

REFERENCES

1. Bazhenova, N. B. Assessment of quality indicators of animal sperm: educational manual / N. B. Bazhenova, K. V. Plemyashov, E. A. Korochkina. – St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2023. – 25 p. URL: https:// www.elibrary.ru/item.asp?id=54902245
2. GOST 32222–2013. Means of reproduction. Sperm. Sampling methods. – Veden January 27, 2015 – M.: Standartinform, 2018. – 10 p.
3. Korochkina, E. A. Reproductive ability of males under stress and methods for its correction: educational manual / E. A. Korochkina, E. Yu. Finageev, V. V. Nikitin. – St. Petersburg: LEMA Publishing House LLC, 2023. – 31 p. – ISBN 978-5-00105-861-8. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54758856
4. Korochkina, E. A. Assessment of ram sperm morphology using a rapid differential staining kit Dia-Diff-Quick / E. A. Korochkina, E. Yu. Finageev, M. M. Ivanovskaya // Veterinary Medicine. – 2023. – No. 7. – P. 38-42. – DOI 10.30896/0042-4846.2023.26.7.38-42. URL: https:// www.elibrary.ru/item.asp?id=54146135
5. Methods for preparing sample males and their use in reproductive biotechnology: Educational and methodological manual for universities / K. V. Plemyashov, E. Yu. Finageev, E. A. Korochkina [etc.]. – St. Petersburg: Lan Publishing House, 2023. – 52 p. - (Higher education). – ISBN 978-5-507-46892-8. – EDN. URL: https:// www.elibrary.ru/item.asp?id=58196592
6. Chenoweth, P. J. (2005). Genetic sperm defects. Theriogenology, 64(3), 457–468. 10.1016/
J.THERIOGENOLOGY.2005.05.005.
7. Farias L.B. Comparison of Diff-Quick and Spermac Staining Methods for Sperm Morphology Evaluation / L.B. Farias, da Cunha Barreto-Vianna AR, de Mello MD, Dos Santos AL, da Fonte Ramos C, Fontoura P. J Reprod Infertil. 2023 Jul-Sep;24(3):166-170. doi: 10.18502/jri. v24i3.13272.
8. Kolster, K. A. (2018). Evaluation of canine sperm and management of semen disorders. Veterinary Clinics of North America— Small Animal Practice, 48(4), 533–545. 10.1016/j.cvsm.2018.02.003. URL: https:// pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29678334/
9. Peña Martínez, A. I. (2004). Canine fresh and cryopreserved semen evaluation. Animal Reproduction Science, 82–83, 209–224. 10.1016/J.ANIREPROSCI.2004.04.024.
10. Van der Horst G. SpermBlue: a new universal stain for human and animal sperm which is also amenable to automated sperm morphology analysis / G. Van der Horst, L. Maree Biotech // Histochem. 2009 Dec;84 (6):299-308.

ХИРУРГИЯ

УДК: 619.718.4-001.6-089.227.84
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.356

МЕТОДИКА ЧРЕСКОСТНОГО ОСТЕОСИНТЕЗА ПРИ ТРАВМАТИЧЕСКОМ ВЫВИХЕ БЕДРЕННОЙ КОСТИ В ТАЗОБЕДРЕННОМ СУСТАВЕ У СОБАК

Антонов Н.И. *– канд. биол. наук, науч. сотр. (ORCID 0000-0002-8627-2749)

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова Минздрава России»

* aniv-niko@mail.ru

Ключевые слова: *чрескостный остеосинтез, травматический вывих, тазобедренный сустав, собака, внешняя фиксация, таз, бедренная кость*
Keywords: *transosseous osteosynthesis, traumatic dislocation, hip, dog, external fixation, pelvis, femur*

Поступила: 22.12.2023 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

В Центре Илизарова разработаны и внедрены в ветеринарную практику различные методики чрескостного остеосинтеза тазобедренного сустава при травматических вывихах головки бедренной кости. Клиническое применение внешней фиксации тазобедренного сустава показало как преимущества, так и недостатки ряда методик. В большей степени применение нашла методика, с шарнирным соединением между внешними опорами таза и бедра. С целью оптимизации, одновременно с сохранением анатомических структур сустава, были предприняты некоторые изменения в методике. Шарнирное соединение опор таза и бедра было заменено иммобилизующей конструкцией, а фиксация бедра стала менее травматичной. Предложенной оптимизированной методикой прооперировано 20 собак различных пород и разных размеров. Для фиксации тазобедренного сустава выполняли чрескостный остеосинтез таза по Илизарову и внешний остеосинтез бедренной кости. Чрескостный остеосинтез выполняли не позднее 3 суток после травмы. Иммобилизацию тазобедренного сустава осуществляли в сроки от 21 до 35 суток. Оценку функций тазовых конечностей определяли клиническими методами исследований. В статье дано подробное описание методики выполнения внешней фиксации тазобедренного сустава. Клинически подтвержден хороший результат применения данной методики с восстановлением функций тазовой конечности. Представлены научные данные по экспериментальному моделированию артрозов и обоснована временная стабилизация сустава. Главным достоинством предложенной методики является кратковременная иммобилизация тазобедренного сустава в физиологическом положении без компрессии с сохранением кровоснабжения головки бедренной кости и соответственно жизнеспособности суставного хряща.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В Центре Илизарова были созданы и апробированы различные способы остеосинтеза тазобедренного сустава и внешние устройства для устранения его травматических повреждений у собак [1-4]. Внешний чрескостный остеосинтез заключается в фиксации костей таза и бедренной кости спицами и/или стержнями-шурупами закреплённых на внешних опорах в виде дуг, полуколец и планок. Опоры таза и бедра соединяют между собой на срок до 35 суток. Между собой методики отличаются разными способами фиксации костей, длительностью фиксации, типами и размерами внешних фиксаторов и внешних опор, наличием различных соединений. Есть методики выбора, так при застарелых вывихах или при вывихах одновременно с повреждением суставной впадины [2, 5, 6]. Ряд конструкций отличает их громоздкость и травматичность фиксаторов, а некоторые недостаточная стабилизация у очень активных собак [7]. На основе клинического опыта применения ранее известных методик чрескостного остеосинтеза тазобедренного сустава при травматическом вывихе головки бедренной кости был определён оптимальный вариант внешней фиксации. Исключено обязательное наличие шарнирного соединения между опорами таза и бедра. Бедро фиксируют монолатеральной конструкцией в виде планки. В качестве фиксаторов костей используют спицы, как показала практика, менее травматичные, чем резьбовые стержни-фиксаторы.

Цель исследования – проанализировать клинические результаты применения блокировки тазобедренного сустава в условиях внешней чрескостной фиксации после травматического вывиха бедренной кости у собак.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

По оптимизированной методике чрескостного остеосинтеза тазобедренного сустава в период с 2011 по 2023 годы прооперировано 20 собак, 15 породистых и 5 беспородных в возрасте от 2-х месяцев до 11 лет, весом от 1,5 до 45 кг. У всех 20 собак определяли односторонний вывих головки бедренной кости, при этом у 11 собак была множественная травма таза с нестабильными повреждениями и у одной собаки перелом бедренной кости.

Чрескостный остеосинтез выполняли под общим наркозом не позднее чем через 3 суток после травмы, используя дрель, спицы, детали аппарата Илизарова и обычный набор хирургических инструментов.

Взаимоотношения органокомплекса тазобедренного сустава после остеосинтеза оценивали рентгенографически. Функциональное состояние оперированной тазовой конечности, после остеосинтеза и в отдалённом периоде, оценивали клиническими методами исследований и опросом владельцев собак. Определяли двигательную и опорную функцию тазовой конечности и состояние мышц бедра оперированной тазовой конечности.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Показаниями для внешнего чрескостного остеосинтеза тазобедренных суставов у собак были свежие вывихи с наличием факторов, предрасполагающих к рецидиву: недостаточное покрытие головки бедренной кости сводом суставной впадины, гиперактивность собаки, большая мышечная масса, ожирение и множественная травма таза с нестабильными повреждениями.

Вправление головки бедренной кости выполняют при дорсальном доступе к тазобедренному суставу [4, 8]. Разрез кожи выполняют перпендикулярно оси позвоночника в проекции центра тазобедренного сустава и верхушки большого вертела бедренной кости. Далее бескровно разъединяют подкожную клетчатку и низлежащие мышцы: поверхностную ягодичную, грушевидную и глубокую ягодичную [8].

Краниальную часть таза фиксируют, соблюдая основополагающие принципы остеосинтеза по Илизарову, тремя спицами диаметром 1,2-2,0 мм с перьевидной заточкой на полукольцевой опоре. Одну спицу проводят через крылья подвздош-

ных костей и через центр тела седьмого поясничного или первого крестцового позвонка. Две спицы проводят только через крылья подвздошных костей с отклонениями до 10° в сегментальной и фронтальной плоскости. У обеих спиц с противоположной стороны должны быть упорные площадки для предотвращения смещения полукольцевой опоры во время фиксации (рис. 1).

Каудальную часть таза фиксируют от одной до трёх консольных спиц (зависит от размера собаки) диаметром 1,5-1,8 мм, введённых в пластинку и тело обеих седалищных костей. Далее крепят спицы на радиусных планках. Опоры, фиксирующие краниальную и каудальную части таза, соединяют между собой посредством резьбовых стержней или планок (рис. 1-4).

Бедренную кость фиксируют монолатеральной конструкцией, состоящей, у маленьких собак из двух, а у средних и больших из трёх пар перекрестно введенных спиц с трёхгранной заточкой и диаметром от 1,2 до 2,0 мм, закрепленных на планке. Для предотвращения смещения головки бедренной кости во время фиксации у молодых гиперактивных собак, в проксимальной части бедра вводят консольную спицу с упорной площадкой (рис. 1, 2-б). Следует отметить, что в ряде методик для стабилизации тазобедренного сустава при фиксации бедра применяют либо травматичные стержни-шурупы или /и чрескостную фиксацию нижней трети бедра на дуговой опоре, что может быть причиной ряда осложнений (отёк, хромота, контрактура) [2, 9].

После установки монолатеральной конструкции тазовую конечность с помощью кронштейнов, планок и резьбовых стержней фиксируют в физиологически удобном для собаки положении. Для этого бедро отводят на 5-10° и сгибают под углом примерно 60-70° к оси тазовой кости (рис. 1, 2).

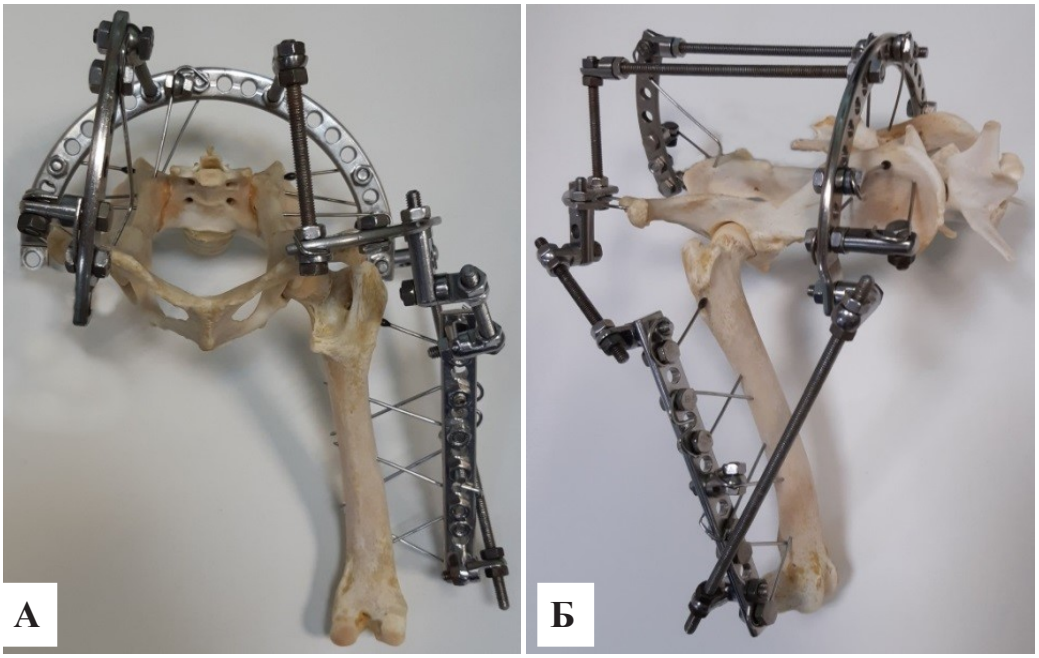


Рисунок 1 – Стабилизация тазобедренного сустава конструкцией внешней фиксации на анатомическом препарате: а – вид сзади; б – вид сбоку.

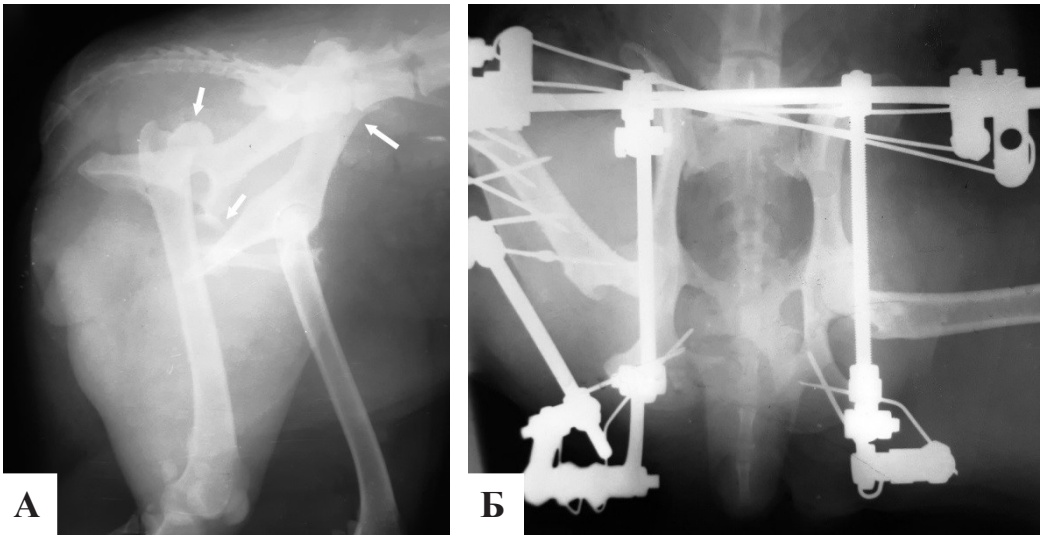


Рисунок 2 – Травма и остеосинтез таза и тазобедренного сустава у русского охотничьего спаниеля: а – повреждения таза, рентгенограмма таза и бёдер в боковой проекции; б – остеосинтез таза и тазобедренного сустава, рентгенограмма таза в прямой проекции после операции.

Параартикулярные ткани плотно сшивают. Сустав блокируют у взрослых собак на срок не менее 21 суток, у щенков на 14 суток. При несвежих и застарелых вывихах, а также при наличии перелома суставной впадины, срок фиксации увеличивают максимум до 35 суток.

В условиях чрескостного остеосинтеза во время выполнения репозиции отломков тазовой кости при переломах суставной впадины возможно выполнение декомпрессии в тазобедренном суставе.

При блокировке тазобедренного сустава опорная и двигательная функции тазовой конечности несколько ограниченны, но компенсируются за счёт работы коленного и скакательного сустава (рис. 3).

Демонтаж внешних опор проводят после рентгенографии и клинической пробы с наличием признаков стабильности в суставе. В первые две недели после демонтажа внешних конструкций собаку сдерживают от резких прыжков и активного поведения. В 50% наблюдений двигательная и опорная функции отсутствовали во время фиксации тазобедренного сустава, но после разблокировки сустава в течение 3-7 суток функции начинают динамично проявляться и восстанавливаются в полной мере (рис. 4).

У активных животных восстановление объёма мышц тазовых конечностей и функций происходит очень быстро в течение 1-2 недель.

Сохранение функции сустава при фиксации является идеальным вариантом, но на практике это не всегда возможно. Иммобилизация тазобедренного сустава в сроки от 21 и до 35 суток, была обусловлена тем, что мы столкнулись со случаями, когда у очень активных собак фиксация с шарниром оказывалась не стабильной, а в других наблюдениях не смотря на шарнир собаки, не пользовались конечностью до демонтажа аппарата [4]. Кроме того, установка шарнира требует точности сопоставления, на что тратится больше времени и у мелких собак значительно сложнее технически. При множественной травме таза, когда вывих сустава соседствовал с переломами данной тазовой кости, требовалась блокировка сустава на срок более чем 21 сутки. Всё это побудило к временному обездвиживанию тазо-

бедренного сустава, что в техническом аспекте проще и быстрее.

Законно возникает вопрос, а что же происходит с суставом при его блокировке. Научные публикации зарубежных и российских исследователей показывают, что питание сустава в значительной степени зависит от сохранения кровеносных сосудов субхондральной кости [10-14]. Субхондральная область сильно васкуляризирована и одновременно уязвима. Её конечные сосуды частично непосредственно контактируют с самым глубоким слоем гиалинового хряща. Перфузия этих сосудов обеспечивает более 50% потребностей хряща в глюкозе, кислороде и воде [11]. Головка бедренной кости основное кровоснабжение получает через внутрикостную сосудистую сеть шейки бедра. При этом повреждение артерий круглой связки и сетчатых артерий капсулы сустава существенного влияния на кровоснабжение головки бедренной кости не оказывает [12]. Экспериментально подтверждено, что нарушение обменных процессов в суставном хряще зависит от иммобилизации и статической нагрузки [15], компрессии суставных поверхностей [5] и от кровоснабжения сустава [13, 16, 17]. Таким образом, внешняя фиксация обеспечивает иммобилизацию тазобедренного сустава в период регенерации капсулы сустава, но при этом ограничивает давление на суставной хрящ и субхондральную кость. Сохранение кровоснабжения субхондральной кости проксимального отдела бедренной кости, конгруэнтное и стабильное состояние поверхностей сустава, короткий срок фиксации и быстрое восстановление двигательной функции тазовой конечности исключают вероятность возникновения дегенеративных заболеваний сустава. При несвежих и застарелых вывихах тазобедренного сустава у спокойных или ослабленных животных применяем аппарат внешней фиксации с шарнирным соединением между опорами таза и бедра [4].

Осложнений (перелом спицы, нестабильность конструкции, долгое заживление мягких тканей) при фиксации бедра монолатеральной опорой в наших случаях мы не наблюдали. Нами получен хороший клинический результат у всех 20 собак, прооперированных методом чрескостного остеосинтеза с временной блокировкой тазобедренного сустава. Отдалённые результаты во всех случаях, владельцами собак, характеризовались как хорошие. В одном случае отдалённые результаты были через 6 месяцев, в двух случаях через год и в 17 случаях более трёх лет. Хромота отсутствовала при обычных нагрузках у всех собак, признаков атрофии мышц бедра не наблюдали.

Рисунок 3 – Опорная функция у беспородной собаки при внешней фиксации тазобедренного сустава и отломков суставной впадины тазовой кости: а – 31-е сутки фиксации таза и тазобедренного сустава; б – 60 суток фиксации таза перед демонтажём внешней конструкции.

Рисунок 4 – Чрескостный остеосинтез таза и тазобедренного сустава у русского охотничьего спаниеля: а – 23-и сутки остеосинтеза; б – 45-е сутки остеосинтеза.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Внешняя чрескостная фиксация создаёт благоприятные условия для заживления капсулы тазобедренного сустава, сберегая кровоснабжение субхондральной кости. Разгрузка тазобедренного сустава в условиях внешней фиксации позволяет избежать дегенеративно-дистрофических и остеохондропластических процессов. Отсутствие компрессии в головке бедра, кратковременная иммобилизация и компенсация функций травмированной конечности позволяют достичь хорошего клинического результата.

Предложенная оптимизированная методика внешнего управляемого остеосинтеза тазобедренного сустава является надёжным орган сберегающим методом выбора для устранения травматического вывиха бедренной кости у собак и может быть, с успехом применена в клинической практике ветеринарными врачами-травматологами, владеющими методом чрескостного остеосинтеза.

TRANSOSSEOUS OSTEOSYNTHESIS TECHNIQUE FOR TRAUMATIC FEMORAL DISLOCATION IN THE HIP OF DOGS

Antonov N.I.* - Candidate of Biological Sciences, researcher (ORCID 0000-0002-8627-2749)

FSBI National Ilizarov Medical Research Centre for Traumatology and Orthopaedics of the RF Ministry of Health

* aniv-niko@mail.ru

ABSTRACT

At the Ilizarov Centre, various techniques of transosseous osteosynthesis of the hip for traumatic dislocations of the femoral head have been developed and introduced into veterinary practice. Clinical use of external fixation has demonstrated both advantages and disadvantages of a number of techniques. In order to optimize, while preserving the anatomical structures of the joint, some changes in the technique were made. The technique with a hinged connection between the external supports of the pelvis and thigh has found application to a greater extent. The hinged connection of the pelvic and femoral supports was replaced with an immobilizing structure, and the hip fixation became less traumatic. 20 dogs of different breeds and different sizes were operated on, using the proposed optimized technique. To fix the hip, transosseous osteosynthesis of the pelvis according to Ilizarov and external osteosynthesis of the femur were performed. Transosseous osteosynthesis was performed

no later than 3 days after injury. Immobilization of the hip was performed within the periods of 21 to 35 days. The assessment of the functions of the pelvic limbs was determined by clinical research methods. A detailed description of the technique for performing external fixation of the hip is provided in the article. The good results of using this technique with restoration of the functions of the pelvic limb have been clinically confirmed. Scientific data on experimental modeling of arthroses are presented and temporary stabilization of the joint is justified. The main advantage of the proposed technique is short-term immobilization of the hip in a physiological position without compression with maintaining the blood supply to the femoral head and in conformity with the viability of the articular cartilage.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Шрейнер А.А., Петровская Н.В., Ерофеев С.А. Внедрение чрескостного остеосинтеза в ветеринарную медицину // Гений ортопедии. 1998. № 4. С. 72-75. Режим доступа: https://www.ilizarov-journal.com/jour/article/view/413/440

2.Молоканов В.А, Кирсанов К.П., Чернигов Ю.В. Лечение травматических вывихов тазобедренного сустава у мелких домашних животных методом чрескостного остеосинтеза / Челябинск, 2003. 84 с.

3.Чернигов Ю. В. Лечение застарелых вывихов тазобедренного сустава у собак методом чрескостного остеосинтеза // Ветеринарная клиника. 2006. № 4. С. 27-29.

4.Антонов Н.И. Опыт лечения собак с травматическими повреждениями тазобедренного сустава // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные. 2014. № 5. С. 6-9. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=22273907

5.Влияние компрессии суставных поверхностей на развитие посттравматического коксартроза при лечении перелома вертлужной впадины в условиях внешней фиксации (экспериментально-морфологическое исследование) / К.П. Кирсанов, В.В. Краснов, Т.А. Силантьева, А.Ю. Кирсанова // Материалы конференции: Ошибки и осложнения в травматологии и ортопедии, Омск. 2011. С. 32-33.

6.Репаративная регенерация при лечении центральных переломов вертлужной впадины с подвывихом головки бедра в условиях применения чрескостного остеосинтеза (экспериментальное исследование) Т.А. Силантьева, С.Ю. Кочетков, Ю.М. Ирьянов, К.П. Кирсанов // Гений ортопедии. 2011. № 1. С.98-103. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=15591350

7.Антонов Н.И. Осложнения при переломах суставной впадины тазовой кости у собак: причины, профилактика и устранение // Ветеринарная патология. 2018, №2. С. 16-24. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=36351815

8.Антонов Н.И. Модифицированный дорсальный оперативный доступ к тазобедренному суставу собаки // Ветеринарная клиника. 2014. № 12. С. 25-26.

9.К вопросу применения аппаратов наружной фиксации в практике ветеринарной ортопедии у собак и кошек / М.И. Родин, И.Г. Киселёв, И.А. Родин, К.С. Полегаева, А.Г. Кощаев // Ветеринария Кубани. 2023. № 5. С. 35-39. Режим доступа: http://www.vetkuban.com/num5_202310.html

10.Мажуга П.М. Источники трофики и структурного самовосполнения суставного хряща // Морфология. 1999. №1. С. 43-50.

11.Subchondral bone and cartilage disease: a rediscovered functional unit / H. Imhof, I. Sulzbacher, S. Grampp, C. Czerny, S. Youssefzadeh, F. Kainberger // Invest Radiol. 2000 Oct; 35(10):581-8. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11041152/

12.Белинов Н.В., Смекалов В.П. Особенности кровоснабжения в головке бедренной кости // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН, 2011, №4 (80), Часть 1. С. 230-233. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=17269999

13.Макушин В.Д., Степанов М.А., Ступина Т.А. Экспериментальное

моделирование остеоартроза коленного сустава у собак // Биомедицина. 2012. № 3. С. 108-115. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=18112861
14.Самодай В.Г., Губанов А.В. Профилактика тяжелого посттравматического деформирующего остеоартроза в амбулаторных условиях // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. Воронеж. 2012. №2. С. 486-491. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=17849687
15.Матвеева Е.Л., Гасанова А.Г., Спиркина Е.С. Метаболизм протеогликанов суставного хряща коленных суставов при дегенеративно-дистрофических изменениях у собак // Ветеринария Кубани. 2018. № 1. С. 25-27. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=32545571
16.Биохимические показатели сыворотки крови собак с моделью дегенеративно-дистрофических изменений коленного сустава на разных стадиях заболевания / Е.С. Спиркина, Е.Л. Матвеева, А.Г. Гасанова, М.А. Степанов // Ветеринария Кубани. 2016. № 5. С. 18-20. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=29197520
17.Effect of ligating dogs' arteries and veins on femoral heads / Z. Liu, D. Feng, H. Chen, G. Tian // J Orthop Surg Res 2022 Feb 25;17 (1):125. doi: 10.1186/s13018-022-02993-x. Режим доступа: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35216590/

REFERENCES

1.Shreiner A.A., Petrovskaya N.V., Yerofeyev S.A. Transosseous osteosynthesis introduction into veterinary medicine // Genij Ortopedii. 1998;(4):72-75. URL: https://www.ilizarov-journal.com/jour/article/view/413/440 (in Russ.)
2.Molokanov V.A., Kirsanov K.P., Chernigov Yu.V. Treatment of traumatic dislocations of the hip joint in small domestic animals using the method of transosseous osteosynthesis / Chelyabinsk. 2003: 84. (in Russ.)
3.Chernigov Yu.V. Treatment of inveterate dislocations of the hip in dogs using transosseous osteosynthesis method // Veterinary Clinic. 2006;(4):27-29. (in Russ.)
4.Antonov N.I. Experience in treating dogs with traumatic injuries of the hip // Russian Veterinary Journal. Small domestic and wild animals. 2014;(5):6-9. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=22273907 (in Russ.)
5.The influence of compression of the articular surfaces on the development of posttraumatic coxarthrosis in the treatment of an acetabulum fracture under external fixation (an experimental-and-morphological study) / K.P. Kirsanov, V.V. Krasnov, T.A. Silanteva, A.Yu. Kirsanova // Materials of the Conference: Errors and complications in traumatology and orthopedics. Omsk. 2011. Pp. 32-33. (in Russ.)
6. Reparative regeneration for treatment of central acetabular fractures accompanied by femoral head subluxation under the conditions of transosseous osteosynthesis (An experimental study) / T.A. Silanteva, S.Yu. Kochetkov, Yu.M. Iryanov, Kirsanov K.P. // Genij Ortopedii. 2011;(1):98-103. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=15591350 (in Russ.)
7.Antonov N.I. Complications of fractures of the acetabulum in dogs: causes, prevention and elimination // Veterinary Pathology // 2018; (2):16-24. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=36351815 (in Russ.)
8.Antonov N.I. Modified dorsal surgical approach to the canine hip joint // Veterinary Clinic. 2014;(12):25-26. (in Russ.)
9.On the issue of using external fixation devices in the practice of veterinary orthopedics in dogs and cats / M.I. Rodin, I.G. Kiselev, I.A. Rodin, K.S. Polegaeva, A.G. Koshchaev // Veterinary of Kuban. 2023; (5):35-39. (in Russ.) URL: http://www.vetkuban.com/num5_202310.html
10.Mazhuga P.M. Sources of trophism and structural self-replenishment of articular cartilage // Morphology. 1999;(1):43-50. (in Russ.)
11.Subchondral bone and cartilage disease: a rediscovered functional unit / H. Imhof, I. Sulzbacher, S. Grampp, C. Czerny, S. Youssefzadeh, F. Kainberger // Invest Radiol. 2000;35(10):581-588. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11041152/
12.Belinov N.V., Smekalov V.P. Peculiar

properties of blood supply in the head of the femur // Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences. 2011, no. 4 (80). Part 1. P. 230-233. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=17269999 (in Russ.)
13. Makushin V.D., Stepanov M.A., Stupina T.A. Experimental modeling of the knee osteoarthrosis in dogs // Biomedicine. 2012; (3):108-115. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=18112861 (in Russ.)
14. Samodai V.G., Gubanov A.V. Prevention of severe post-traumatic deforming osteoarthrosis in outpatient setting // Bulletin of experimental and clinical surgery. Voronezh. 2012;(2):486-491. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=17849687 (in Russ.)
15. Matveeva E.L., Gasanova A.G., Spirkina E.S. Metabolism of proteoglycans in articular cartilage of knee joints during degenerative-dystrophic changes in dogs / E.L. Matveeva, // Veterinary of Kuban. 2018;(1):25-27. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=32545571 (in Russ.)
16. Biochemical parameters of canine blood serum with a model of degenerative-dystrophic changes in the knee at different stages of the disease / E.S. Spirkina, E.L. Matveeva, A.G. Gasanova, M.A. Stepanov // Veterinary of Kuban. 2016;(5):18-20. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=29197520 (in Russ.)
17. Effect of ligating dogs' arteries and veins on femoral heads / Z. Liu, D. Feng, H. Chen, G. Tian // J Orthop Surg Res 2022 Feb 25;17 (1):125. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35216590

УДК: 619:636.04:636.1
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.365

КУПИРОВАНИЕ И МИОТОМИЯ МЫШЦ ХВОСТА КАК КОСМЕТИЧЕСКИЕ ОПЕРАЦИИ У ЛОШАДЕЙ В ЕВРОПЕЙСКИХ ПЕЧАТНЫХ ИСТОЧНИКАХ XVII- XVIII ВЕКОВ

Виноходова М.В.* – канд. ветеринар. наук, доц. кафедры организации, экономики и управления ветеринарным делом; **Ярощук А.И.** – канд. ветеринар. наук, асс. кафедры организации, экономики и управления ветеринарным делом.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

Ключевые слова: *каудотомия, купирование хвоста лошади, ампутация хвоста, миотомия хвоста, десмотомия хвоста лошади, история ветеринарии, ветеринарная хирургия.*

Key words: *caudotomy, horse tail docking, tail amputation, tail myotomy, horse tail desmotomy, history of veterinary medicine, veterinary surgery.*

*hscmvmv@mail.ru

Поступила: 01.02.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ: Актуальность и цели. В настоящее время в мире операции по ампутации хвоста у лошадей или по хирургической коррекции не получают одобрения общества и запрещены законом во многих странах, за исключением случаев, когда они проводятся в лечебных целях. Не поощряются они и правилами и регламентами международных спортивных и племенных ассоциаций, как калечащие, и имеют очень ограниченное распространение. Авторы взятых нами исторических источников сходятся в том, что операция ампутации хвоста у лошадей в середине XVII века уже являлась обычной процедурой, выполняемой вполне успешно. Изучая и сравнивая данные источники, особенности и различия в анатомическом описании, в методике проведения операции, обеспечении послеоперационного периода, можно приблизиться к пониманию развития ветеринарной медицины в Европе и в России. Был проанализирован ряд печатных европейских источников XVII-XVIII веков, в которых содержится описание хирургических процедур, направленных на коррекцию длины и позиции хвоста лошади. Среди отобранных источников - книги на английском и испанском языках, в том числе книги, переведенные на русский язык, изданные в печатном виде и представляющие собой руководства для специалистов и владельцев животных. В изученных нами источниках представлены две основные операции на хвосте лошади. Это ампутация хвоста (каудотомия) и миотомия хвоста. Нами были изучены анатомические описания строения хвоста лошади, указания на квалификацию хирургов, описания техники проведения операций, приемы фиксации животных, послеоперационный уход и осложнения.

ВВЕДЕНИЕ/INTRODUCTION

Лошадь служила основным видом транспорта и основной рабочей силой в европейских странах и в России вплоть до второй половины XX века. С развитием культуры использования лошади как военного и спортивного животного в высшем обществе лошадь, а точнее ее эстетические и физические качества, также стала служить показателем статуса ее владельца, что дополнительно предъявляло определенные требования к ее внешнему виду.

Красота и сила лошади оценивалась при осмотре, внешний вид определял возраст, здоровье, силу животного и направление его использования. В источниках, принадлежащих XVII веку, отсутствуют точные (в современном представлении) зоотехнические и анатомические описания статей и частей тела лошади. Часто они представлены метафорами. Например, [1]: «…у нее (лошади) должны быть глаза и суставы быка, сила мула и ноги такие же, копыта и бедра осла, горло и шея волка, уши и хвост лисицы, грудь и волосы женщины, взгляд змеи, походка кошки, легкость и ловкость зайца...».

Особое внимание уделялось выходу шеи и ее строению, строению корпуса, крупа лошади, соизмеримости различных ее частей друг с другом. Естественно, оценивались и состояние зубов, копыт, приметы и другие параметры. Кроме того, по состоянию зубов, копыт и хвоста лошади в XVII веке могли пытаться определить ее возраст [2-4]. Отсюда уместно предположить, что состояние и внешний вид хвоста лошади могло иметь значение при ее оценке и эксплуатации.

Вместе с зарождением науки о статях, появляются и приемы по их маскировке, коррекции, фальсификации. В литературе описаны операции по нанесению отметин на кожу и шерсть животных, нанесению углублений, имитирующих лунки на зубах, операции по улучшению формы ушей [5], приемы для улучшения внешнего вида шерсти, улучшению роста длинных волос гривы и хвоста. К одним из истинно хирургических операций, описанных в руководствах XVII века, можно отнести операции на хвосте: ампутация и миотомия хвоста.

В позднем средневековье и вплоть до XVII-XVIII века существовали дополнительные требования к внешнему виду рабочих, военных животных и лошадей для парадных выездов. Рабочим и военным животным часто купировали хвост из-за риска травмирования. Традиция купирования или подвязывания хвостов лошадям появляется еще в Древней Греции и Риме. Во время соревнований колесниц хвосты лошадям подвязывались, заплетались или подрезались так, чтобы не допустить попадания под них вожжей или волос из них сверху на вожжи, потому что это грозило не только испугом животного, но и потерей возможности управления. Такая операция впервые описана в трудах Пелагония.

В составе доспехов лошади имеется специфическая часть пластины, которая лежала на крупе лошади и должна была прикрывать хвост. В одном из источников [6] упоминается, что в турнирах и военных действиях, где всадник пользовался копьем (пикой), хвост лошади также мог травмироваться.

Рабочим лошадям операцию по ампутации части хвоста делали по причине возможных травм упряжью, а также по причине представлений, что это делает лошадь сильнее [2,7-10].

Одним из страшных «уродств» и «пороков» (в некоторых источниках характеризуется как болезнь) считалась привычка лошади искривлять хвост или сгибать его в одну сторону. Таким лошадям, как и лошадям, склонным «хвостить» (то есть часто обмахиваться хвостом, проявляя реакцию на прикосновение шпоры или другой дискомфорт), в XVII веке могли сделать операцию, заключающуюся в миотомии мышц хвоста. Иногда такую операцию проводили для того, чтобы добиться высокой (поднятой) позиции хвоста.

В настоящее время в мире подобные операции не получают одобрения общества и запрещены законом во многих

странах, за исключением случаев, когда они проводятся в лечебных целях. Не поощряются они и правилами и регламентами международных спортивных и племенных ассоциаций, как калечащие, и имеют очень ограниченное распространение.

Исследуя источники XVII века, касающиеся хирургии области хвоста лошади, применяемой с косметической целью, были рассмотрены различные методики и условия проведения операций, уровень предполагаемой авторами руководств подготовки мастера, уровень и особенности знания анатомии, а также характер применяемых инструментов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Был проанализирован ряд печатных европейских источников XVII-XVIII веков, в которых содержится описание хирургических процедур, направленных на коррекцию длины и позиции хвоста лошади. Среди отобранных источников - книги на английском и испанском языках, в том числе книги, переведенные на русский язык, изданные в печатном виде и представляющие собой руководства для специалистов и владельцев животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В изученных нами источниках представлены две основные операции на хвосте лошади. В испаноязычных книгах обе операции не имеют собственного названия, как специального или анатомического, так и жаргонного. Их называют «Cortar la cola», что означает – «отрезать или подрезать хвост». В то же время, в англоязычных источниках рассматриваемые операции имеют каждая собственное название: операция каудотомии или ампутации хвоста – «docking», от to dock (англ.) – обрубать, или «curtailing» - «сокращать», а операция по коррекции положения хвоста – миотомии или тенотомии мышц и сухожилий хвоста - «nicking», от to nick (англ) – порез, подрезать.

В целом авторы всех взятых нами источников сходятся в том, что операция ампутации хвоста у лошадей в середине XVII века являлась обычной процедурой, чаще выполняемой вполне успешно. Тем не менее, среди источников имеются различия, как в анатомическом описании, так и в методике проведения операции и обеспечении послеоперационного периода [8].

Прямых указаний на квалификацию хирургов в тексте руководств XVII века нет, но по обращению к человеку, который будет осуществлять операцию («маэстро», «хирург», «кузнец», «альбеитар»), а также по наличию указаний в тексте на обладание опытом оперирующего лица в «…кровопусканиях и прочем ремесле…», касающегося специфического хирургического инструмента, т.о. оперирующий должен был обладать некоей квалификацией и опытом в данной процедуре. Хотя сама операция не считалась сложной [2,6,7].

«Врач («альбеитар») должен хорошо изучить конкретное животное и «конкретный хвост», знать возможные последствия, принцип лечения, а также знать о предстоящем лечении раны и уходе за животным. Этот человек должен быть хорошо знаком с анатомией этой области – знать, где шкура, где мышцы, нервы, позвонки, подкожная клетчатка (автор называет ее «подкожным жиром»), связки, сухожилия, вены, артерии. Подрезанию подлежит все перечисленное кроме сухожилий, так как они являются связующим звеном всех этих структур» [6].

Наряду с рациональными рекомендациями, например, о предпочтительном времени года для проведения операции (не самые жаркие и не самые холодные месяцы), о режиме питания животных, которым назначена процедура (ограничить дачу сочных кормов в течение нескольких дней до и после операции) авторы испаноязычных источников отмечают важность защиты животных от лунного света и в период главенства знака Весов. Считалось, что лунный свет пагубно влияет на здоровье животных, и может привести к смерти. А проведение операции в период главенства созвездия Весов, может приводить к раку хвоста. [6]

Особый интерес в описаниях операций в источниках XVII века представляют приемы фиксации и анестезии животных. Каких-либо указаний на наличие анестезии в проанализированных источниках не приводится. Авторы предполагают, что читатель знает, как зафиксировать лошадь, и сосредоточены именно на методике проведения операции и обеспечении послеоперационного ухода. В одном источнике есть указание о привязывании всех четырех конечностей [2], а также об укладывании хвоста на колоду, с целью его отрубить, что возможно, скорее всего, только в фиксации с повалом. У Ramírez [6] есть упоминание метода фиксации хвоста путем привязывания к основанию шеи. В одном англоязычном источнике есть указание о необходимости наложить жгут на хвост перед проведением операции [1,2,6,7,11].

Купирование хвоста осуществляли по 4-5 хвостовой позвонок [2]. Ориентировались путем пальпации межпозвоночных соединений. В одном из источников, в главе по ампутации хвоста содержится более подробное анатомическое описание его строения: «Хвост состоит из 4 позвонков крестца и затем еще 3 хрящеватых (дословно «кости из хряща – 3 шутки») и остальная часть хвоста имеет разное число позвонков. Эта разница заметна – у лошадей 12-13 позвонков, у мулов 16-18. Форма позвонков квадратная («оквадраченная») и позвонки имеют полости, в которых проходят нервы, по бокам есть вены, питающие его. Вокруг позвонков мускулистое мясо и также есть нервы. Хвост нужен таким большим животным чтобы спасаться от назойливых «животинок» (имелись в виду насекомые), а также для украшения (ссылается на Плиния)» [6,12-17]. В целом, авторы руководств считают, что опыт и знание основных частей (тканей), имеющихся в этой области, позволят оперирующему успешно провести процедуру: «…там есть мышцы, нервы, позвонки, подкожная клетчатка, связки, сухожилия. И когда используете нож, разрезая, то не ошибитесь с анатомией» [6].

В двух источниках [6,7] авторы уделяют особое внимание инструменту («железу»), рекомендуя обоюдоострый нож, гладкий и хорошо отполированный, также перед операцией нож следовало очистить и натереть шерстяной тканью. В одном из источников автор предлагает ударять по ножу большим кузнечным молотом для отсечения хвоста. В то время как одни авторы предостерегают от использования горячего инструмента [7], другие настаивают на его применении и каутеризации сосудов и тканей хвоста, и даже приводят изображение специального приспособления для прижигания [2]. В книге У. Бёрдона [18,19], переведенной на русский язык, рекомендовано перерубать хвост, поместив на колоду, а ни в коем случае не перерезать его ножом, после ампутации автор рекомендует прижечь культю. Ампутация хвоста осуществлялась по межпозвоночному сочленению. Также оперирующий мастер заботился о наличии достаточного количества тканей, чтобы кости не выступали открыто наружу, но об ушивании раны информации не приводится.

Особое место занимает послеоперационный уход, что связано, по-видимому, с огромным риском осложнений. Среди них авторами приводятся: кровотечения, воспаление и гангрена самой культи, прилегающих областей и кишечника. Гангрена или «гниение» упоминается чаще всего. Уход за раной и борьба с воспалением обеспечивались при помощи раздражающих и прижигающих препаратов, таких как скипидар, уксус, известковая вода, спирт, квасцовая вода, применялось также розовое масло, настойка мирры, использовались приемы местного охлаждения тканей, свиной жир. При угрозе воспаления кишечника рекомендовано было давать смягчающие вещества. В случае развития лихорадки применялись рецепты на основе рвотного камня, сурьмы, обожженного оленьего рога и других компонентов [5].

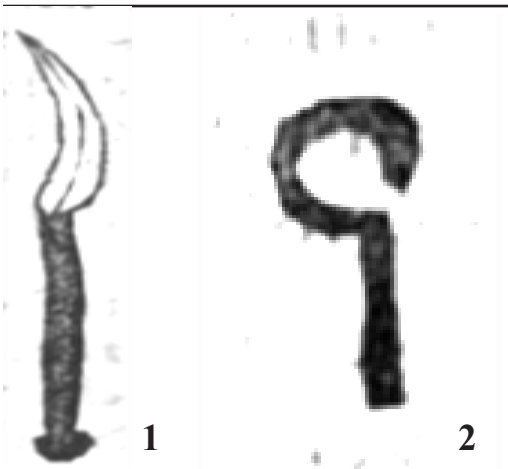


Рисунок 1 – Нож (ланцет), рекомендуемый для поведения операций на хвосте [6].
Рисунок 2 – Приспособление для прижигания культи хвоста. В центральное отверстие должен был помещаться хвостовой позвонок [2].

Подрезание мышц хвоста лошади, осуществлялось с целью улучшения манеры держать хвост у лошади. Операция по своим масштабам более скромная, чем купирование, но требующая лучшего знания анатомии, в том числе из-за эстетического характера производимого эффекта. На момент описания рассматриваемых источников уже было известно, что хвост приподнимается или поднимается одной группой мышц и опускается другой.

«Мышцы, поднимающие хвост, более многочисленны, крупнее и сильнее, чем те, которые его опускают. Они тесно связаны с костями хвоста мясистыми волокнами и оканчиваются на концах сильными сухожилиями. Но мышцы-опускатели хвоста вскоре превращаются в сухожильные разрастания и три больших сухожилия, которые прикрепляются к последним костям хвоста, есть несколько других мелких сухожилий, которые идут латерально. Артерий четыре, и они иногда проходят над костями хвоста, поэтому их легко избежать ловкой рукой, так как их трудно повредить ножом при разделении сухожилий, которые необходимо разрезать при этой операции» [7,11].

«Несколько примечательно, что Снейп, Сонье и Гибсон, которые в целом довольно точны в своих анатомических описаниях, опустили описание мышц лошади, чтобы описать мышцы хвоста, по причине того, что подходящая возможность не предложила восполнить это упущение, сделав полное вскрытие, точность которого нам хотелось бы иметь; надеемся, что последующее описание будет извинительно, поскольку оно взято только из хвоста, который был рассечен после купирования» [2].

Суть операции сводилась к поперечному разрезу мышц либо сухожилий хвоста, в результате чего хвост выпрямлялся за счет мышц-антагонистов. Авторы утверждают, что между разъединенными концами сухожилий образуется мозоль, заполняющая пустующее место. Основными техническими сложностями были – сделать операцию минимально инвазивно и эффективно и обеспечить фиксацию хвоста в определенном положении, которое будет способствовать нужному срастанию сухожилий, и более «правильной» позиции хвоста.

Количество разрезов должно быть пропорционально длине хвоста [2,7], обычно производили три разреза. Ramírez рекомендует до 6 разрезов [6]. Сразу после операции заплетали на конце в один или два узла и очищали волосы хвоста и накладывали повязку из пакли, обработанную порошковой канифолью и винным спиртом, бинтованную сверху льняной тканью или лентой, последнюю на утро нужно было срезать [2,7]. Ранки рекомендовано промывать чистой водой, чтобы «изгонять кровь из них и не дать развиться воспалению». Рекомендовано также содержать рану в сухости и чистоте, периодически протирать ее мягким материалом [6]. В англоязычных источниках каждые два или три дня рекомендовано разбинтовывать хвост и отпускать фиксатор, а часть рядом с крупом омывать горячим уксусом, а если кожа начинает трескаться и волосы выпадать, протирать настойкой мирры. В случае угрозы

осложнений в виде выраженного воспалении или гангрены рекомендовано лечение как при операции ампутации хвоста [11].

Среди приемов удержания хвоста в нужном положении обычным методом считался прием с использованием блока и груза. Авторы англоязычных источников отмечают его недостаток в том, что основная часть хвоста удерживается в строго вертикальном положении, что «также является неправильным», зависит от движений лошади и хвост в итоге может быть наклонен в одну сторону, так как операционные раны на одной и на другой стороне могут заживать с разной скоростью. Авторы обращают внимание и на то, что при таком методе лошадь постоянно находится с грузом на хвосте, и необходимо удалять его для тренинга или водопоя животного [7,11].

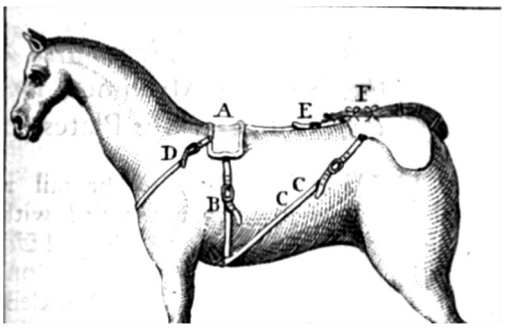


Рисунок 3 – Лошадь с машиной для фиксации хвоста [7].

Чтобы устранить неудобства и усовершенствовать эту операцию, было изобретено специальное устройство («машина»), описанное у Bartlet [7]. Устройство обеспечивало равномерное заживление сухожилий и разрезов, не раздражало лошадь, позволяло ездить на ней и водить на водопой, держать раны на виду и обрабатывать их при необходимости. Через шесть или восемь дней лошади давали постоять несколько часов без машины, а затем рекомендовано поездить на ней, чтобы понаблюдать, как она держит хвост. Таким образом можно было решить, насколько строго в дальнейшем нужно его фиксировать, после того как раны заживут. В некоторых случаях, приходилось держать хвост зафиксированным до тех пор, пока рубцовая ткань не сформируется окончательно, на несколько часов в день, но с большей свободой.

ВЫВОДЫ/CONCLUSION

В британской армии приказ об отмене обязательного купирования хвоста вышел в 1764 году в связи с тем, что лошади слишком страдают от летающих насекомых, а польза этой операции весьма сомнительна [20]. Этому способствовало и определенное недовольство общества жестокостью процедуры, как купирования, так и миотомии, и сомнительной эстетикой результата операций [21].

В одном из стихотворений Вольтер, иронизируя над англичанами, упоминает ампутацию хвоста: «…Вы, гордые англичане и варвары, отрубаете головы своим королям и хвосты своим скотам. Но французы, более вежливые и любящие законы, оставляют хвосты своим зверям, а головы своим королям» [21]. В источниках XVIII века, переведенных на русский язык, ампутация хвоста переведена, как «англизация». Из этого можно заключить, что мода на укороченный хвост у лошадей пришла из Англии [19], где была популярна в XVII веке [21]. Не смотря на «обыденность» и техническую легкость процедуры, которая, однако, требовала опыта и уровня мастерства, потери в XVIII веке в результате операции могли составлять от 10 до 50% прооперированных лошадей [22].

В Бельгии купирование хвостов некоторым позвоночным, включая лошадей, запрещено королевским указом в 2001 году. Однако такой отмены во многих странах Европы не произошло до сих пор [23]. В 2004-2023 годах по инициативе зоозащитных организаций и правительств ряда стран Европы было предпринято исследование о целесообразности и гуманности проведения косметических операций на хвосте лошадей, в ходе чего было выяснено, что операция производится исключительно по инициативе и для удовлетворения эстетических чувств человека. Лошади наносит вред в плане реализации поведения и невозможности защиты

от насекомых. На данный момент проведение каудотомии поощряется только в лечебных целях. Настоящей статьей авторы не призывают к возрождению традиций проведения подобных операций, преследуя лишь интерес к историческим закономерностям развития ветеринарной медицины, анатомии и хирургии.

Анализируя источники XVII-XVIII веков, описывающие операции на хвосте лошади, мы можем отметить следующее:

Ветеринарной медициной в этот период занимаются специалисты, у которых в первую очередь есть опыт. Специальность этих людей могла звучать в текстах и оцениваться по-разному – это и «кузнец», это и «альбеитар» (по-арабски – конюх или ветеринарный специалист), это и просто «мастер» или «маэстро», что говорит об отсутствии обязательного образования или иной школы, кроме непосредственного опыта обращения с животными и их лечения;

Для мастеров XVII века характерно уже довольно подробное знание анатомии лошади, как и привычка к анатомированию, с целью это знание получить. Упоминаются как полные вскрытия трупов лошадей с целью анатомирования, так и анатомирование уже ампутированного хвоста, с целью его описания в книге. Для обозначения самой операции специальная и анатомическая терминология не используется. Используется либо «cortar en el nacimiento de la cola», что означает «подрезать месторождение хвоста» и «cortar la cola», что означает «подрезание хвоста». В англоязычных текстах используются «docking» - для операции по купированию хвоста - термин, который до сих пор используется в англоязычной литературе, и «nicking» - для миотомии и десмотомии мышц хвоста, последний термин может быть найден лишь в старых источниках (начало XX века и ранее);

Мастера - авторы исследуемых руководств, также имели разную подготовку и различный доступ к медицинской литературе. Так например, Ramírez [6] регулярно ссылается в тексте на других [24,25], в большинстве античных, авторов, таких как Гален, Диоскорид, Лагун, Плиний и другие. Авторы же англоязычных источников делают редкие ссылки и, как правило, на работы своих соотечественников. В источниках XVIII века на английском языке цитируются в основном источник XVII века [2]. Wallis [11], в рассматриваемых разделах по операциям на хвосте копирует Bartlet [7], но все же ссылается на него. Такой «плагиат» в источниках XVII-XVIII века не возбранялся и, помимо разницы в подготовке и осведомленности авторов, может указывать на устоявшиеся традиции, подходы и способы осуществления тех или иных процедур;

Операции в указанный период проводились в полевых условиях и в условиях конюшен. Каких-то особых указаний по месту проведения процедуры в текстах не встречается. Однако некоторые условия все-таки упоминаются, такие как температурные (не самые жаркие и не самые холодные месяцы года). Также имеются требования к инструменту, которого судя по всему, было не так много и его нужно было подобрать и специально подготовить. Так например, если не подбирать гладкий инструмент и не шлифовать его тканью перед операцией, частицы железа останутся в тканях и будут вызывать воспаление [2]. Возможно, это связано с низким качеством кустарных инструментов, металл которых мог иметь пористую структуру.

DOCKING AND MYOTOMY OF THE TAIL MUSCLES AS COSMETIC OPERATIONS IN HORSES IN EUROPEAN PRINTED SOURCES OF THE 17th-18th CENTURIES

Vinokhodova M. V.* – PhD of Veterinary Sciences, Department of Organization, Economics and Management of Veterinary Affairs, Yaroshchuk A. I. – PhD of Veterinary Sciences, Department of Organization, Economics and Management of Veterinary Affairs

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*hscmvmv@mail.ru

ABSTRACT

Relevance and goals. Tail amputation or surgical correction in domestic animals, especially in horses, is not accepted by society and is prohibited by law in many countries, except when performed for medicinal purposes. They are not encouraged by the rules and regulations of international sports and breeding associations, as mutilating, and have a very limited distribution. The authors of the historical sources we have taken agree that the operation of tail amputation in horses in the middle of the 17th century was already a common procedure performed quite successfully. By studying and comparing these sources, features and differences in anatomical description, surgical techniques, and postoperative care, one can come closer to understanding the development of veterinary medicine in Europe and Russia at that time.

Materials and methods. A number of printed European sources of the 17th-18th centuries were analyzed, which contain descriptions of surgical procedures aimed at correcting the length and position of a horse's tail. Among the selected sources are books in English and Spanish, including books translated into Russian, published in printed form and representing guides for specialists and animal owners.

Results. The sources we have studied present two main operations on the horse's tail. These are tail amputation (caudotomy) and tail myotomy. We studied anatomical descriptions of the structure of the horse's tail, indications of the qualifications of surgeons, descriptions of surgical techniques, methods of fixing animals, postoperative care and complications.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Gent, F.M. The Jockey's Guide, and Farrier's Companion, Great Britain: Henry Rhodes, next door to the Swan tavern, near Bride-Lane, in Fleet-street, 1687. – 216 p.
2.Markham, G. Markham's Master-piece Revived, Great Britain, John Wright and Thomas Passinger, 1681. – 391 p.
3.Burdon, W. Capt. burdon's gentleman's pocket-farrier. Great Britain, J. Torbuck; and J Rowland, 1742. -170 p.
4.Philippos, N. B.. The farrier's and horseman's dictionary: being a compleat system of horsemanship. Great Britain, J. Darby, A. Bettesworth, F. Fayram, J. Pemberton, C. Rivington [and 4 others in London], 1726. – 454 p.
5.L'etang, A. The practise of farriery. India, 1795. – 112 p.
6.Ramírez B.F. Discurso de albeyteria, España, Domingo Palacio y Villegas (Madrid), 1655. – 306 p.
7.Bartlet, J. The Gentleman's Farriery, or a practical treatise, on the diseases of horses, 2nd ed. Great Britain, London, 1744. – 367 p.
8.Gibson, W. A New Treatise on the Diseases of Horses. Great Britain, 1754. – 562 p.
9.Clater, F. Every man his own farrier: or the whole art of farriery laid open, USA, University of California Libraries, 1783. – 380 p.
10.Gibson, W. The Farrier's new guide. Great Britain, T. Longman, 1738. – 262 p.
11.Wallis, T. The Farrier's and Horseman's Complete Dictionary, Great Britain, W. Owen, at Homer's Head near Temple-Bar; and E. Baker, at Tunbridge-Wells, 1764. – 330 p.
12.Arredondo, M. Flores de Albeyteria: tratado segundo. España, Madrid, 1661. . – 132 p.
13.Arredondo, M. Recopilacion de albeyteria: Sacada de varios autores. España, Madrid, 1658. – 448 p.
14. Arredondo, M. Flores de Albeyteria: tratado segundo. España, Madrid, 1661. – 32 p.
15. Calvo, F. Libro de albeiteria. España, Madrid, 1675. – 386 p.
16. Borges, J. Practica, y obseruaciones pertenecientes al arte de la albeyteria. España, Madrid, 1680. – 199 p.
17. Conde, P. Verdadera albeyteria. España, Madrid, 1707. – 436 p.
18.Бартлет, Д. Полезный дворянам коновал или Собрание всего того, что славнейшие писатели ни предложили свету наиполезнейшаго к сохранению лошадей: с приобщением подробнаго описания клажи и новоизобретенной в Англии для резания хвоста машины / Переведено с

французскаго Петром Кювилье. - Печатано в Санкт-Петербурге: [тип. Сухопут. кад. корпуса], 1779. -198 с.
19.Бёрдон, У. Карманной коновал для дворянина и конскаго охотника, или Наставление, каким образом помогать в дороге лошадям своим в нужных случаях и какия делать замечания при покупке оных / Перевел с немецкаго Николай Осипов. - В Санкт-Петербурге: печатано в типографии Ф.Мейера, 1795. – 107 с.
20.J.H.L., F. S. Docking army horses // Journal of the Society for Army Historical Research. Great Britain. -1925. - №4(15), p. 16 –18.
21.Robinson, J. The New annual register or general repository of history, politics, and literature, Great Britain, 1792. – 480 p.
22.Hoin, M. The medical museum or select cases, experiments, researches and discoveries in medicine, pharmacy, Anatomy, botany, chemistry, surgery, physiology, Great Britain, Messrs. Dodsley, Stockdale, Bowen, Newberry, Buckland, Sewel, Nichols, 1781. – 728 p.
23.Lefebvre, D. Tail docking in horses: a review of the issues // Animal. -2007. - №8, p. 1167–1178.
24.Crittenden, M. Horse-Doctors in the Roman Empire [Электронный ресурс] // URL: https://www.researchgate.net/publication/305333341_Horse-Doctors_in_the_Roman_Empire_pdf_format (дата обращения 29.02.2024)
25.Reina, F. Libro de albeyteria. España, Alcala, 1647. – 382 p.

REFERENCES

1.Gent, F.M. The Jockey's Guide, and Farrier's Companion, Great Britain: Henry Rhodes, next door to the Swan tavern, near Bride-Lane, in Fleet-street, 1687. – 216 p.
2.Markham, G. Markham's Master-piece Revived, Great Britain, John Wright and Thomas Passinger, 1681. – 391 p.
3.Burdon, W. Capt. burdon's gentleman's pocket-farrier. Great Britain, J. Torbuck; and J Rowland, 1742. -170 p.
4.Philippos, N. B.. The farrier's and horseman's dictionary: being a compleat system of horsemanship. Great Britain, J. Darby, A. Bettesworth, F. Fayram, J. Pemberton, C. Rivington [and 4 others in London], 1726. – 454 p.
5.L'etang, A. The practise of farriery. India, 1795. – 112 p.
6.Ramírez B.F. Discurso de albeyteria, España, Domingo Palacio y Villegas (Madrid), 1655. – 306 p.
7.Bartlet, J. The Gentleman's Farriery, or a practical treatise, on the diseases of horses, 2nd ed. Great Britain, London, 1744. – 367 p.
8.Gibson, W. A New Treatise on the Diseases of Horses. Great Britain, 1754. – 562 p.
9.Clater, F. Every man his own farrier: or the whole art of farriery laid open, USA, University of California Libraries, 1783. – 380 p.
10.Gibson, W. The Farrier's new guide. Great Britain, T. Longman, 1738. – 262 p.
11.Wallis, T. The Farrier's and Horseman's Complete Dictionary, Great Britain, W. Owen, at Homer's Head near Temple-Bar; and E. Baker, at Tunbridge-Wells, 1764. – 330 p.
12.Arredondo, M. Flores de Albeyteria: tratado segundo. España, Madrid, 1661. . – 132 p.
13.Arredondo, M. Recopilacion de albeyteria: Sacada de varios autores. España, Madrid, 1658. – 448 p.
14. Arredondo, M. Flores de Albeyteria: tratado segundo. España, Madrid, 1661. – 32 p.
15. Calvo, F. Libro de albeiteria. España, Madrid, 1675. – 386 p.
16. Borges, J. Practica, y obseruaciones pertenecientes al arte de la albeyteria. España, Madrid, 1680. – 199 p.
17. Conde, P. Verdadera albeyteria. España, Madrid, 1707. – 436 p.
18.Бартлет, Д. Полезный дворянам коновал или Собрание всего того, что славнейшие писатели ни предложили свету наиполезнейшаго к сохранению лошадей: с приобщением подробнаго описания клажи и новоизобретенной в Англии для резания хвоста машины / Переведено с французскаго Петром Кювилье. - Печатано в Санкт-Петербурге: [тип. Сухопут. кад. корпуса], 1779. -198 с.
19.Бёрдон, У. Карманной коновал для

дворянина и конскаго охотника, или Наставление, каким образом помогать в дороге лошадям своим в нужных случаях и какия делать замечания при покупке оных / Перевел с немецкаго Николай Осипов. - В Санкт-Петербурге: печатано в типографии Ф.Мейера, 1795. – 107 с.
20.J.H.L., F. S. Docking army horses // Journal of the Society for Army Historical Research. Great Britain. -1925. - №4(15), p. 16 –18.
21.Robinson, J. The New annual register or general repository of history, politics, and literature, Great Britain, 1792. – 480 p.
22.Hoin, M. The medical museum or select cases, experiments, researches and discoveries in medicine, pharmacy, Anatomy, botany, chemistry, surgery, physiology, Great Britain, Messrs. Dodsley, Stockdale, Bowen, Newberry, Buckland, Sewel, Nichols, 1781. – 728 p.
23.Lefebvre, D. Tail docking in horses: a review of the issues // Animal. -2007. - №8, p. 1167–1178.
24.Crittenden, M. Horse-Doctors in the Roman Empire [Электронный ресурс] // URL: https://www.researchgate.net/ publication/305333341_Horse-Doctors_in_the_Roman_Empire_pdf_format (дата обращения 29.02.2024)
25.Reina, F. Libro de albeyteria. España, Alcala, 1647. – 382 p.

УДК: 616.596-002.3:636.1"321/324"
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.375

СЕЗОННОЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ГНИЕНИЯ СТРЕЛКИ КОПЫТ У ЛОШАДЕЙ

Кириллов А.А. * – канд. ветеринар. наук; **Стекольников А.А.** – д-р ветеринар. наук, профессор, академик РАН.

ФГБОУ ВО «Санкт – Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

*Layka1981@mail.ru

Ключевые слова: *лошади, заболевания копыт, распространение, гниение стрелки, сезонность проявления.*
Keywords*: horses, hoof diseases, spread, frog thrush, seasonality of manifestation.*

Поступила: 15.02.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Здоровье копыт, регулярный уход за ними имеют основополагающее значение для всех лошадей, это помогает предотвратить травмы и заболевания. Хромота – это основной клинический признак, при выявлении которого, владельцы осознают, что это может привести к остановке тренировочного процесса и, как следствие, значительным экономическим потерям. Заболевания копыт одна из наиболее частых причин, вызывающих хромоту. Поэтому, поддержание всех составляющих копыта в здоровом состоянии остается важной задачей, стоящей перед владельцами. Для проведения исследования в течении 2023 года в условиях конноспортивных комплексов Санкт-Петербурга и Ленинградской области было проведено ортопедическое обследование и плановая расчистка копыт у 800 лошадей. Данное исследование было направлено на изучение распространения заболеваний дистального отдела конечности и на определение наиболее часто встречаемой патологии. Проведено исследование по изучению сезонного проявления гниения стрелки копыта у лошадей в течении 2023 года. На основании проведенных исследований сделан анализ полученных данных. После ортопедического обследования 800 животных у 230 диагностировали заболевания дистального отдела конечностей различной этиологии, что составило 28,75% от общего числа обследованных. Из них гниение стрелки было выявлено у 89 животных, что составило 38,69% от числа животных с патологией. Гниение стрелки может прогрессировать и вызывать необратимую хромоту, если ее своевременно не диагностировать и не принять соответствующие меры, направленные на купирование патологического очага. Так же отмечено, что данная патология встречалась в большей степени на копытах, имеющих правильную форму и баланс в количестве 72 копыт, пик встречаемости приходился на осенне-зимний период. В 32 случаях гниение стрелки диагностировали на копытах с высокой и узкой пяткой. Копыта с отрицательной осью конечности поражались в меньшей степени. Гниение стрелки очень частая тяжелая проблема, как владельцев, так и для специалистов, обслуживающих копыта. Поэтому вопрос профилактики, раннего выявления заболевания является актуальным для исследования и экономически оправданным для владельцев дорогостоящих животных.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Копыто лошади состоит из множества структур, каждая из них выполняет свою функцию. Одна из них — это стрелка. Она представляет собой нечувствительную клиновидную подушку, помогающая лошади поглощать удары, обеспечивать кровообращение и т.д. [1, 2]. Вместе с другими эластичными структурами копыта, а также целым рядом костных элементов, стрелка под давлением сжимает сеть вен, чтобы вытолкнуть лишенную кислорода кровь. Здоровая, хорошо сформированная стрелка имеет клиновидную форму, эластичную консистенцию. Стрелка правильной формы, заполняющая пространство между пятками, способствует естественному механизму самоочистки: когда копыто нагружается, стрелка расширяется, вытесняя накопившуюся грязь и мусор из борозд стрелки. [2, 3, 5, 7].

Гниение стрелки копыта – это бактериальная инфекция, поражающая копыта лошади, а в частности, его мягкие ткани. Пораженная стрелка становится рыхлой, чувствительной и имеет неприятный запах. Скопившиеся бактерии в боковых и центральных бороздах могут проникнуть в чувствительные структуры копыта, вызвать кровотечение и последующее инфицирование. Поэтому, общее состояние здоровья стрелки, является важным фактором для здоровья лошади [1, 2, 7].

Изучая литературные источники [1, 2, 3, 5, 6, 7]. посвященные вопросу гниения стрелки, было отмечено недостаточно данных по распространению и сезонном проявлении данного заболевания, в связи с чем, перед нами была поставлена цель за период 2023 года оценить проявление гниения стрелки у лошадей в условиях конно-спортивных клубов Санкт-Петербурга и Ленинградской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводили на базе конно-спортивных клубов Санкт-Петербурга и Ленинградской области в 2023 году. Были обследованы 800 голов, из них 230 животных с патологией конечностей различного характера. Обследование лошадей проводили после предварительного изучения амбулаторных карт, условий содержания, рациона, выполняемой работы и степени нагрузки при тренировочном процессе. При обнаружении гниения стрелки фиксировали сезонность проявления. В процессе обследования проводили осмотр в движении, в покое со всех сторон, обращали внимание на ось пальца, форму копыт, а также состояние стрелки. При необходимости применяли механическую обработку стрелки копыта или ортопедическую ковку.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

За период 2023 г. в условиях конно-спортивных клубов Санкт-Петербурга и Ленинградской области ортопедическому обследованию было подвергнуто 800 голов. С патологией различного характера выявлено 230 животных, что составило 28,75% от общего числа обследованных. В таблице 1 представлены данные по частоте встречаемости патологий дистального отдела конечностей различного характера.

За период 2023 года гниение стрелки копыта обнаруживали в 89 случаях (Таблица 1), что составило 11,12 % от общего поголовья обследованных животных и 38,69% от числа животных с патологией. Новикулярный синдром обнаруживали у 39 животных, 4,87% и 16,95% соответственно. В 37 случаях диагностировали трещины рогового башмака различной этиологии, что составило 4,62 % общего поголовья обследованных животных и 16,08% от числа животных с патологией.

Из общего числа обследованных животных 800 голов, в 89 случаях обнаруживали гниение стрелки, что составляет 11,12%. При обнаружении патологии стрелки копыта фиксировали сезонность его проявления. В результате было установлено, что наиболее высокий пик регистрации случаев гниения стрелки отмечали начиная с конца осеннего периода, т.е. в октябре – 10 случаев, ноябре – 18 случаев (Таблица 2, Рисунок 1). В зимний период наблюдали стабильность в проявлении патологии, так в декабре отметили –

13 случаев, январе – 12 случаев, феврале – 12 случаев. Весенний период показал стремительное снижение заболевания: март – 6, апрель – 6 случаев в сравнении с периодами, где максимальные значения достигали от 10 до 18 случаев. Минимально низкие значения заболевания в равной степени регистрировали начиная с мая – 2, июнь – 3, июль – 1, август – 4, сентябрь – 2 случаев.

При обследовании животных с гниением стрелки обращали внимание на их форму и ось конечности. Как результат, гниение стрелки было зафиксировано на 72 копытах с правильной формой (Таблица 3). Данный вариант поражения стрелки в большинстве случаев выявляли в зимний период года, декабрь – 11 случаев, январь – 15 случаев, февраль – 14 случаев. В сравнении, на копытах с высокой и узкой пяткой данную патологию устанавливали на 32 копытах. Пиковые значения при данных условиях приходились на январь – 8 случаев и ноябрь – 9 случаев. Наличие гниения стрелки при отрицательной оси конечности обнаруживали на 11 копытах. Наибольшее количественное значение фиксировали на январь – 4 случая.

На основании проведенных исследований и полученных данных сделан анализ. В ходе исследования, при оценке наиболее часто встречаемой патологии было отмечено, что гниение стрелки обнаруживали в 89 случаях, это составило 38,69% от числа животных с патологией. Широкое распространение данной патологии, по нашему мнению, связано с тем, что копыто находится в постоянной негативной среде, пагубно влияющей на мягкие ткани копыта [1, 2, 4, 8]. В отличии от других заболеваний, где основным фактором, приводящим к проблеме, являются травмы, полученные в тренировочном процессе. К таким патологиям относятся новикулярный синдром, который обнаруживали у 39 животных 16,95% от числа животных с патологией. Травмы третьего межкостного мускула, их обнаруживали в 18 случаях 7,82% соответственно.

Таблица 1 – Распространение заболеваний дистального отдела конечностей за 2023г.

Форма патологии	Количество животных с патологией	% от общего числа обследованных животных	% от числа животных с патологией
Гниение стрелки	89	11,12	38,69
Новикулярный синдорм	39	4,87	16,95
Трещины	37	4,62	16,08
Травмы третьего межкостного мускула	18	2,25	7,82
Намины	16	2	6,95
Грибок белой линии	9	1,12	3,91
Остеоартроз копытного сустава	6	0,75	2,60
Остеоартроз венечного сустава	4	0,5	1,73
Ламинит	4	0,5	1,73
Травмы глубокого сгибателя пальца	3	0,38	1,30
Пододерматит	2	0,25	0,86
Травмы поверхностного сгибателя пальца	1	0,13	0,43
Остеоартроз путового сустава	1	0,13	0,43
Контрактура	1	0,13	0,43

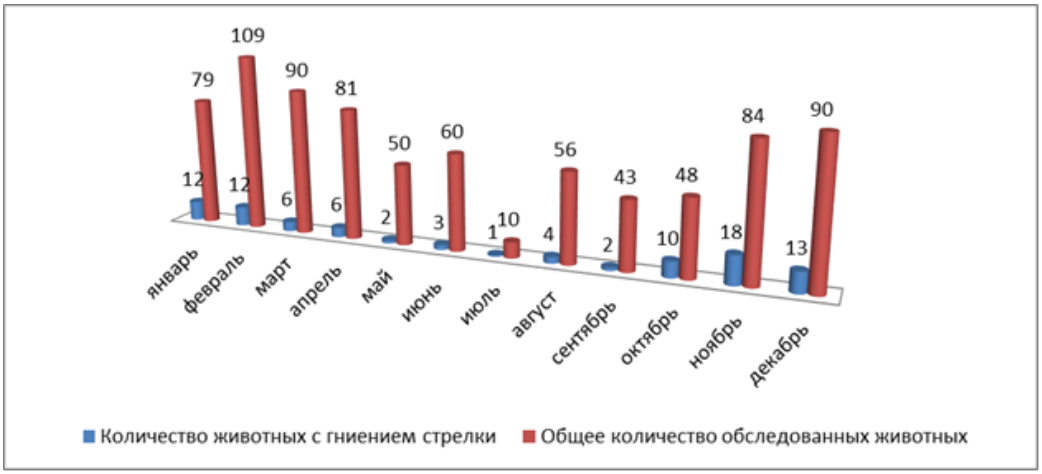


Рисунок 2 – Проявление гниения стрелки в зависимости от сезона года.

Таблица 3 – Проявление гниения стрелки относительно формы копыт и оси пальца

Месяц	Количество копыт правильной формы с гниением стрелки	Количество копыт с гниением стрелки и отрицательной осью конечности	Количество копыт с гниением стрелки, высокой и узкой Пяткой
Январь	15	4	8
Февраль	14	1	3
Март	4	2	
Апрель	4		2
Май	4	1	1
Июнь		1	2
Июль			1
Август	3		1
Сентябрь	2		
Октябрь	7		3
Ноябрь	8		9
Декабрь	11	2	2
Итого:	72	11	32

Анализируя полученные данные, при проявлении гниения стрелки относительно времени года было отмечено следующее: наиболее высокий пик регистрации случаев гниения стрелки отмечали, начиная с конца осеннего периода, т.е. начиная с октября – 10 случаев и заканчивая в ноябре – 18 случаев. В зимний период проявлении данной патологии отмечали в декабре – 13 случаев, январе – 12 случаев, феврале – 12 случаев. Причинами такой тенденции является то, что в осенне – зимний период животные большую часть времени проводят в закрытых помещениях (денниках). Как результат, происходит размножение микроорганизмов, вызывающие гниение стрелки [4, 5, 6, 8]. Без достаточного движения механизм самоочищения копыта не работает должным образом. Боковые и центральные борозды забиваются подстилкой, где создаются идеальные условия для развития бактериальной инфекции, такие как сильно загрязненная подстилка, повышенная влажность в помещениях, более высокая температура в денниках в отличии от уличной температуры. [6, 8]. Все это в добавок с аммиаком раздражает ткани стрел-

ки давая возможность проникать инфекции в более глубокие ткани и, как следствие, приводят к воспалению. [1, 2, 6]. В месте с этим отсутствие достаточного движения ведет к ухудшению гемодинамики копыта, что нарушает питание тканей и ослабляет местный иммунитет [3, 4, 8].

Именно по этим же причинам мы наблюдали высокую встречаемость гниения стрелки на копытах, имеющих правильную форму и баланс в количестве 72 копыт. Было установлено, что пик встречаемости приходился на осенне – зимний период, начиная с ноября и заканчивался в феврале. Следом по количеству идут копыта с высокой и узкой пяткой 32 копыта, наибольшее проявление гниения стрелки при данных условиях приходилось с ноября по февраль. В меньшей степени гниению стрелки подвергались копыта с отрицательной осью конечности. Это свидетельствует о нарушении его дорсо-пальмарного баланса. В этом случае наибольшую нагрузку принимает пяточная часть копыта, в результате, ткани стрелки постоянно испытывают излишнее давление и изнашивание за счет постоянного абразива от грунта. Стрелка становится все слабее и слабее, в ее ткани появляются микротрещины, а находящаяся в грунте инфекция под действием тяжести, как клин вдавливается в глубь тканей, провоцируя развитие воспалительного процесса [6, 7, 8].

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, движение животного один из основополагающих факторов являющийся залогом здоровой стрелки и копыта в целом. Поэтому, очень важно обеспечивать животных достаточным моционом в осенне – зимний период, когда животные большую часть времени проводят в денниках. Так, мы наблюдали высокую встречаемость гниения стрелки на копытах, имеющих правильную форму и баланс в количестве 72 копыт. Было установлено, что пик встречаемости приходился на осенне – зимний период, начиная с ноября и заканчивался в феврале. Следом по количеству идут копыта с высокой и узкой пяткой 32 копыта, наибольшее проявление гниения стрелки при данных условиях приходилось с ноября по февраль. В меньшей степени гниению стрелки подвергались копыта с отрицательной осью конечности. Это свидетельствует о нарушении его дорсо-пальмарного баланса. В этом случае наибольшую нагрузку принимает пяточная часть копыта, в результате, ткани стрелки постоянно испытывают излишнее давление и изнашивание за счет постоянного абразива от грунта. Стрелка становится все слабее и слабее, в ее ткани появляются микротрещины, а находящаяся в грунте инфекция под действием тяжести, как клин вдавливается в глубь тканей, провоцируя развитие воспалительного процесса.

SEASONAL OF FROG THRUSH IN HORSES

Kirillov A.A. *– k. vet. n., **Stekolnikov A.A.** – Dr. veterinarian. Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences

St. Petersburg University of Veterinary Medicine

*Layka1981@mail.ru

ABSTRACT

Hoof health and regular hoof care are fundamental to all horses and help prevent injury and disease. Lameness is the main clinical sign, when identified, owners are horrified to realize that this can lead to a stop in the training process and, as a result, significant economic losses. Hoof diseases are one of the most common causes of lameness. Therefore, maintaining all components of the hoof in a healthy condition remains an important task facing owners. To conduct the study during 2023, an orthopedic examination and routine hoof trimming of 800 horses were carried out in the conditions of equestrian centers of the St. Petersburg and Leningrad region. This study was aimed at studying the distribution of diseases of the distal limb and determining the most common pathology. A study was conducted to

study the seasonal manifestations of hoof rot in horses. Based on the research conducted, an analysis of the data obtained was made. After an orthopedic examination of 800 animals, 230 were diagnosed with diseases of the distal limbs of various etiologies, of which frog rot was detected in 89 animals. This pathology can progress and cause irreversible lameness if it is not diagnosed in a timely manner and appropriate measures are not taken to stop the pathological focus. Rotting of the frog is a very common headache for both owners and hoof care professionals. Therefore, the issue of prevention and early detection of the disease is relevant for research and economically justifiable for owners of expensive animals.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Миломир Ковач. Ортопедические заболевания лошадей. Современные методы диагностики и лечения. / М.: «Королевский издательский дом», 2013 – 624с.: ил.
2.Нассу Р. Пороки и болезни копыт: проблемы ковки. Строение копыта. Расчистка копыта. Пороки копыт и способы их устранения. Заболевания копыт и их лечение. /Пер. с англ. С. Розенфельд, М.Жуковой. – М.: «Аквариум –Принт», 2009. – 224с.: ил.
3. Bowker RM, Van Wulfen KK, Springer SE, Linder KE. Functional anatomy of the cartilage of the distal phalanx and digital cushion in the equine foot and a hemodynamic flow hypothesis of energy dissipation. American Journal of Veterinary Research. 1998 Aug;59(8):961-968. PMID: 9706199
4.Holzhauer, M. et al. Cross-sectional study of the prevalence of and risk factors for hoof disorders in horses in The Netherlands. Prev Vet Med. 2017 May; 53-59
5. O'Grady SE. Various aspects of barefoot methodology relevant to equine veterinary practice. Equine Vet Edu 2015 28(6):321-326.
6. O'Grady, SE. Guidelines for Trimming the Equine Foot: A Review. Proceedings, Am Assoc Equine Pract 2009 55;218-225.
7.O'Grady SE. Equine Thrush: A Closer Look. American Farriers Journal, November 2018: Volume 44: 8.
8.Sang-Kyung Shin, Su-Min Kim, Steve Lioyd, Gil-Jae Cho. Prevalence of Hoof Disorders in Horses in South Korea. The Open Agriculture Journal 2020: Volume 14: 25-29.

REFERENCES

1.Milomir Kovac. Orthopedic diseases of horses. Modern methods of diagnosis and treatment. / M.: "Royal Publishing House", 2013 – 624 pp.: ill.
2. Nassu R. Defects and diseases of the hooves: problems of forging. Hoof structure. Hoof trimming. Hoof defects and ways to eliminate them. Hoof diseases and their treatment. /Trans. from English S. Rosenfeld, M. Zhukova. – M.: "Aquarium-Print", 2009. – 224 pp.: ill.
3. Bowker RM, Van Wulfen KK, Springer SE, Linder KE. Functional anatomy of the cartilage of the distal phalanx and digital cushion in the equine foot and a hemodynamic flow hypothesis of energy dissipation. American Journal of Veterinary Research. 1998 Aug;59(8):961-968. PMID: 9706199
4.Holzhauer, M. et al. Cross-sectional study of the prevalence of and risk factors for hoof disorders in horses in The Netherlands. Prev Vet Med. 2017 May; 53-59
5. O'Grady SE. Various aspects of barefoot methodology relevant to equine veterinary practice. Equine Vet Edu 2015 28(6):321-326.
6. O'Grady, SE. Guidelines for Trimming the Equine Foot: A Review. Proceedings, Am Assoc Equine Pract 2009 55;218-225.
7.O'Grady SE. Equine Thrush: A Closer Look. American Farriers Journal, November 2018: Volume 44: 8.
8.Sang-Kyung Shin, Su-Min Kim, Steve Lioyd, Gil-Jae Cho. Prevalence of Hoof Disorders in Horses in South Korea. The Open Agriculture Journal 2020: Volume 14: 25-29.

НЕЗАРАЗНЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК: 619:616-006-06:636.7
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.381

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ПАРАНЕОПЛАСТИЧЕСКИХ СИНДРОМОВ У СОБАК

Вильмис Д. А.* – канд. ветеринар. наук, доц. кафедры болезней мелких домашних, лабораторных и экзотических животных (ORCID 0009-0007-0921-627X)

ФГБОУ ВО Российский биотехнологический университет «РОСБИОТЕХ»

*vilmisda@mgupp.ru

Ключевые слова: *паранеопластический синдром, новообразования, гематологические исследования, клинический анализ крови, собаки.*
Keywords: *paraneoplastic syndrome, neoplasms, hematological studies, clinical blood test, dogs.*

Поступила: 22.12.2023 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Гематологические паранеопластические синдромы являются распространенными, но мало изученными осложнениями в ветеринарной онкологии, проявляющимися разнообразными гематологическими изменениями, связанными с системным воздействием злокачественных новообразований на организм животного. В статье представлены результаты изучения гематологических паранеопластических синдромов у 131 собаки со спонтанными злокачественными новообразованиями. При проведении исследования был использован комплексный методический подход, включающий клинические, инструментальные, морфологические и гематологические методы исследования. По результатам морфологических исследований в 33,6% случаях у собак диагностировали карциномы, из которых в 24,4% регистрировали карциному молочной железы, в остальных случаях отмечали поражение легких, печени, почек и брюшной полости, в 22,1% саркомы, в том числе гемангиосаркому селезенки в 7,6%, в 16,8% случаев лимфомы желудочно-кишечного тракта и лимфоузлов, в 16,8% мастоцитомы, в 4,6% меланомы кожи и слизистых оболочек, плоскоклеточный рак в 6,1% случаев. В результате гематологических исследований выявлено, что анемический синдром (18,4%), лимфопения (16,8%) и тромбоцитопения (15,4%) являются наиболее частыми изменениями в клиническом анализе крови у собак с онкологическими заболеваниями. Нейтрофильный лейкоцитоз, лейкопения и тромбоцитоз имели идентичную частоту встречаемости, которая составила 12,2% случаев. Моноцитоз и лимфоцитоз диагностировали реже, по 4,6% случаев. Изменения лейкограммы наблюдали в 75,4% случаях: в 66,2% установили повышение процентного соотношения нейтрофилов, со сдвигом влево в 38,5% случаев, уменьшение процентного соотношения лимфоцитов в 18,5% случаях, моноцитов в 6,2% случаях, эозинофилов в 4,6% случаев. Частота встре-

чаемости гематологических изменений в общем клиническом анализе крови собак зависела от гистогенеза опухоли. Гематологические паранеопластические синдромы могут быть использованы как ранний маркер наличия онкологического процесса, также они могут препятствовать назначению своевременного лечения, а анемия и тромбоцитопения являются абсолютными противопоказаниями для химиотерапии и лучевой терапии.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Паранеопластический синдром является клиническим проявлением системного воздействия злокачественных новообразований на организм животного, не связанного с локальным действием опухоли или метастазированием, проявляющегося изменением гомеостаза и клинико-лабораторных показателей [1-4].

К гематологическим проявлениям паранеопластического синдрома относятся анемии, проявляющиеся снижением гемоглобина, количества эритроцитов и гематокрита, лейкопения, тромбоцитопения, панцитопения, полицитемия, лейкоцитоз, моноклональная гаммапатия (гипергаммаглобулинемия), коагулопатии онкопациентов и диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС синдром) [1-3,5-7].

Анемия является самым распространенным гематологическим паранеопластическим синдромом и может быть обусловлена различными патогенетическими механизмами [3,7,8]. По данным литературных источников диагностируется у 43% собак и 58% кошек с лимфомой, а также при гемангиосаркоме и лейкозах [9-12]. К возможным причинам снижения уровня гемоглобина и эритроцитов при злокачественных новообразованиях относят кровопотерю, гемолиз, уменьшение срока жизни и изменения морфологии эритроцитов (появление шистоцитов, сфероцитов эхиноцитов, телец Хуэлла-Жолли), снижение эритропоэза [7,8].

Кровопотеря при онкологических заболеваниях может быть острой и хронической. Так, разрыв селезенки при гемангиосаркоме с развитием гемоперитонеума может привести к тяжелой острой постгеморрагической анемии, чаще регенераторной, характеризующейся увеличением количества ретикулоцитов через 3-5 дней после кровотечения [3,8,11]. Хроническое кровотечение может наблюдаться при опухолях желудочно-кишечного тракта, мочевого пузыря, носовой и ротовой полостей и других опухолях слизистых оболочек, а также при некротических поражениях и изъязвлениях опухолей, что приводит к развитию хронической постгеморрагической анемии, чаще микроцитарной гипохромной [3,7]. Также при онкологических процессах может развиваться анемия хронических заболеваний, обусловленная нарушением обмена железа в организме на фоне повышения уровня гепсидина и развития гипоферремии [2,13]. Анемия хронических заболеваний развивается при хронических инфекциях, воспалительных, онкологических и аутоиммунных заболеваниях, имеет черты железодефицитной. При злокачественных новообразованиях в основном является умеренной нормохромной, нормоцитарной. Патогенетически связана с эктопической продукцией опухолевыми клетками провоспалительных цитокинов, например, интерлейкинов 1, 6, 10, фактора некроза опухоли, снижающих не только выработку эритропоэтина в условиях гипоксии, но и непосредственно влияющих на красный костный мозг, вызывая угнетение эритропоэза [7,14]. Повышенная концентрация эстрогенов, связанная с опухолями семенников и яичников у собак, также может приводить к миелосупрессии и, соответственно, снижению эритропоэза [2,3,8]. Немаловажную роль в патогенезе анемии играет и полисистемно-дистрофический синдром, характеризующийся преобладанием катаболических процессов, снижением количества энергетического и пластического материала, а также нарушением усвояемости и метаболизма железа, витаминов группы В и фолиевой кислоты [4,7,8].

Иммуноопосредованные гемолитические анемии, связанные с формированием

антиэритроцитарных аутоантител с последующим разрушением эритроцитов клетками иммунной системы, часто регистрируются при лимфомах [2,3,8]. Неиммунная гемолитическая анемия, связанная с механическим повреждением оболочки эритроцитов и последующим гемолизом, наблюдается на фоне микроангиопатии, возникающей при неоангиогенезе опухолевого очага и формировании аномальной извитой сети сосудов с измененной сосудистой стенкой, с повреждением эндотелия и отложениями фибрина, а также при окислительном повреждении эритроцитов [2,3,7,8]. Значимый эритрофагоцитоз описан у собак и кошек с лимфомами, мастоцитомами и опухолями плазматических клеток [3].

Полицитемия, как проявление гематологического паранеопластического синдрома, встречается значительно реже и может быть связана с увеличением уровня эритропоэтина при опухолевых поражениях почек, метастатическом поражении легких, эктопической выработкой эритропоэтина или эритропоэтиноподобных веществ другими новообразованиями, а также продукцией опухолевыми клетками андрогенных гормонов, усиливающих его действие [1-3,5,9]. Увеличение количества эритроцитов описано при фибросаркоме, лейомиосаркоме, лимфоме, опухолях легких, и может привести к синдрому повышенной вязкости крови, характеризующемуся скоплением клеток крови в мелких капиллярах, нарушением перфузии периферических тканей и гемостаза, повышенным риском тромбообразования [3]. Эритроцитоз может быть относительным на фоне дегидратации животного или сопутствующих заболеваний дыхательной и сердечно-сосудистой систем, что требует тщательной дифференциальной диагностики.

Нейтрофильный лейкоцитоз, чаще со сдвигом влево, нередко диагностируется у животных с карциномами, например, при карциноме легкого и аденокарциноме, связан с воспалительной реакцией и некрозом тканей, также регистрируется при лимфоме, фибросаркоме и опухолях почек [1-3,5,11]. Моноцитоз и эозинофилия описаны при лимфомах, мастоцитомах, карциномах молочной железы, фибросаркомах ротовой полости [3,5]. Лейкопения тоже может быть следствием развития злокачественного новообразования в организме животного, отражая нарушения иммунной системы и способствуя развитию инфекционных осложнений [3,9,11,15].

Тромбоцитопения у собак с опухолями может быть обусловлена снижением продукции или разрушением тромбоцитов, повышенным потреблением, уменьшением срока жизни, а также усиленной секвестрацией при спленомегалии на фоне новообразований селезенки [1-3,15]. Описана в 36% случаев при карциномах. Также диагностируется при лимфомах, гемангиосаркомах, лейкозах и других видах опухолей, чаще являясь иммуноопосредованной [1-3,11]. Не иммунные механизмы разрушения тромбоцитов и снижения их количества связаны с микроангиопатией, изъязвлением опухолевых образований. Повышенное потребление наблюдается при острых кровопотерях, связанных с разрывом опухолевого очага, или при хроническом кровотечении, с большей степенью выраженности при наличии нарушений тромбоцитопоэза [2,11].

Нарушения гемостаза у животных со злокачественными новообразованиями связаны с продукцией клетками опухоли компонентов коагуляционной и фибринолитической систем, тромбоцитопенией, изменением функций тромбоцитов, уменьшением синтеза факторов свертывания крови, гипергепаринемией [1-3,5,6,9]. У 50% собак с новообразованиями описана гиперкоагуляция, установленная тромбоэластографией [3]. Раковые заболевания являются частой причиной развития диссеминированного внутрисосудистого свертывания, описываемого в 10% случаях у собак с эпителиальными опухолями, чаще молочной железы и легких, характеризующегося системной активацией гемостаза, образованием тромбов в микроциркуляторном русле с одновременным

повышенным риском развития неконтролируемых кровотечений, обусловленных потреблением тромбоцитов и факторов свёртывания крови [2,3]. Одним из патогенетических механизмов развития диссеминированного внутрисосудистого свертывания является продукция раковыми клетками фактора некроза опухоли, интерлейкинов 1, 6 и тканевого фактора, которые могут активировать коагуляцию.

Гематологические паранеопластические синдромы являются распространенными, но мало изученными осложнениями в ветеринарной онкологии, проявляющимися разнообразными гематологическими изменениями, связанными с системным воздействием злокачественных новообразований на организм животного.

Целью работы является изучение клинико-гематологического статуса и встречаемости гематологических паранеопластических синдромов собак со спонтанными новообразованиями различного гистогенеза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводились в период с 2021 по 2023 год на базе лаборатории «Онкологии, офтальмологии и биохимии животных» и кафедры болезней мелких домашних, лабораторных и экзотических животных ФГБОУ ВО Российского биотехнологического университета «РОСБИОТЕХ» в рамках государственного задания (регистрационный номер ЕГИСУ темы НИР: FSMF-2022-0003).

Объектом исследования явились 131 собака домашнего содержания, различной породы и возраста со спонтанными злокачественными новообразованиями, подтвержденными гистологически. Животные были разделены на группы в зависимости от гистогенеза опухоли: группа с мезенхимальными опухолями (саркомами), группа с эпителиальными опухолями (карциномы), группа с опухолями из меланинобразующей ткани (меланомы), группа собак с гемобластозами (лимфомы), группа с эпителиальными опухолями без специфической локализации (плоскоклеточный рак), отдельно выделили группу собак с низко и средне дифференцированными мастоцитомами (G3, G2 по Patnaik). В виду высокой частоты встречаемости отдельно были рассмотрены группы с карциномами молочной железы и гемангиосаркомой селезенки. Животные при отсутствии морфологического подтверждения злокачественности новообразования были исключены из исследования, в том числе с диагнозом высокодифференцированные мастоцитомы, так как системное воздействие на организм оказывают только злокачественные новообразования.

При проведении исследования был использован комплексный методический подход, включающий сбор анамнеза жизни и болезни животных, клинический осмотр по общепринятой методике, общий клинический и биохимический анализы крови, дополнительные методы визуальной диагностики, включающие рентгенографическое и ультрасонографическое исследования грудной и брюшной полостей, магнитно-резонансную и компьютерную томографии. С помощью методов визуальной диагностики определяли локализую онкологического процесса, оценивали степень инвазии в окружающие ткани, а также наличие метастазов. Верификацию онкологического процесса проводили на основании морфологических исследований. Материал для цитологического исследования получали путем тонкоигольной биопсии, для гистологического исследования путем экцизионной биопсии. Полученный от животных материал подвергался стандартному гистологическому процессингу, срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и подвергали патоморфологическому исследованию.

Биохимическое исследование крови осуществляли с использованием анализатора Vetscan 2, морфологические исследования крови на анализаторе Micro CC-20 Plus. При необходимости проводили микроскопию мазков крови, окрашенных по Паппенгейму, для более точной оценки морфологии клеток крови, определения количества и выявления агрегатов

тромбоцитов при тромбоцитопении.

Полученные результаты обрабатывали статистически. Анализ и математическую обработку полученных результатов проводили с помощью программы Excel MS Office, определяли средние арифметические величин и среднеквадратичное отклонение. Достоверность отличий в группах определяли с помощью U-критерий Манна-Уитни в программе Statistica 10.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

По результатам морфологических исследований в 33,6% случаях у собак диагностировали карциномы, из которых в 24,4% регистрировали карциному молочной железы, в остальных случаях отмечали поражение легких, печени, почек и брюшной полости. Распространенность лимфом, с локализацией в желудочно-кишечном тракте, лимфоузлах, на верхней челюсти, низко и средне дифференцированных мастоцитом (G3, G2 по Patnaik) была одинакова и составила 16,8%. Меланомы кожи и слизистых оболочек обнаруживали в 4,6% случаев, плоскоклеточный рак в 6,1% случаев. Саркомы составили 22,1% случаев и были представлены фибросаркомами, остеосаркомами, хондросаркомами, по одному случаю венерической саркомы и семенника, гемангиосаркомой селезенки в 7,6% случаев.

Сводные данные общего клинического анализа крови собак с новообразования различного гистогенеза и контрольной группы представлены в таблице 1. Данные представлены как среднее значение показателя по группе ± среднеквадратичное отклонение.

По результатам общего клинического анализа крови количество эритроцитов у собак исследуемой группы составило от 3,24 до $8,57\times10^{12}$ кл/л, среднее значение показателя $6,38\pm1,09\times10^{12}$ кл/л (95% доверительный интервал (ДИ) 6,11-$6,65\times10^{12}$ кл/л). В 18,4% случаев выявили снижение уровня эритроцитов, установленное при лимфоме кишечника и лимфоузлов, гемангиосаркоме селезенки, остеосаркоме и карциноме легких, мастоцитоме, плоскоклеточном раке мягкого неба. Наиболее часто анемию регистрировали у собак с лимфомой в 54,5% случаев от всех лимфом, гемангиосаркоме селезенки в 40% случаев данной патологии, реже при других новообразованиях: в 11,5% при эпителиальных опухолях, в 9% при мастоцитомах и в 10% случаях при других видах мезенхимальных опухолей.

Количество гемоглобина в исследуемой выборке собак составило от 72 до 191 г/л, среднее значение показателя 142,05±28,86 г/л (95% доверительный интервал 134,81-149,29 г/л). Снижение уровня гемоглобина было обнаружено в 15,4% случаев и отмечалось при лимфомах, мастоцитомах, гемангиосаркоме селезенке, карциноме легкого, карциноме брюшной полости. Стоит отметить, что в 12,3% случаев снижение уровня гемоглобина зафиксировали с одновременным снижением количества эритроцитов и гематокрита. При лимфомах дополнительно отмечали снижение эритроцитарных индексов: в 2 случаях среднего объема эритроцита (MCV) и в других 4 случаях показателя насыщения эритроцита гемоглобином (MCHC) (9,1% и 18,2% от всех случаев лимфом, 1,5% и 3,1% от всех опухолей соответственно). Также снижение показателя насыщения эритроцита гемоглобином (MCHC) отмечали в 2 случаях карциномы легкого с одновременным снижением количества эритроцитов, гемоглобина и гематокрита, в 2 случаях карциномы молочной железы и фибросаркоме без изменений других показателей клинического анализа, в 4 случаях саркомы одновременно со снижением количества лейкоцитов, лимфопенией и нейтрофилией (13,8% от всех случаев сарком). Уменьшение среднего объема эритроцитов (MCV) наблюдали при низкодифференцированной карциноме молочной железы (2 собаки), мастоцитоме (2 собаки) и меланоме носового зеркала (2 собаки) по 1,5% от всех случаев опухолевого процесса при отсутствии других изменений в клиническом анализе крови. Увеличение среднего объема эритроцитов (MCV) установили в 7,6% случаев: в 3,05% при карциноме молочной железы с

Таблица 1 – Показатели общего клинического анализа крови собак с онкологическими заболеваниями

Группа животных	Эритроциты, млн/мкл ($\times 10^{12}$ кл/л)	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %	Лейкоциты, тыс/мкл (10^9 кл/л)	Лимфоциты, тыс/мкл ($x10^9$ кл/л)	Моноциты, тыс/мкл ($x10^9$/л)	Нейтрофилы, тыс/мкл ($x10^9$/л)	Эозинофилы, тыс/мкл ($x10^9$/л)	Базофилы, тыс/мкл ($x10^9$/л)	Тромбоциты, тыс/мкл ($x10^9$/л)
	M±δ	M±δ	M±δ	M±δ	M±δ	M±δ	M±δ	M±δ	M±δ	M±δ
Референсный диапазон лаборатории	5,50-8,50	120,00-180,00	37,00-55,00	6,00-17,00	1,00-4,80	0,20-1,50	3,00-12,00	0-0,80	0-0,40	165-500
Собаки со злокачественными опухолями (n=131)	6,38 ± 1,09*	142,05 ± 28,86	42,07 ± 7,99	14,35 ± 15,96	3,85 ± 14,02***	0,79 ± 1,88	9,44 ± 6,25*	0,32 ± 0,62***	0,02 ± 0,03	320,69 ± 166,78*
Карциномы различной локализации (n=44)	6,85 ± 0,82	155,53 ± 17,18	45,37 ± 4,80	13,72 ± 7,99***	2,14 ± 1,44*	0,65 ± 0,85	9,77 ± 5,71	0,23 ± 0,21*	0,01 ± 0,02	374,16 ± 144,81
Карциномы молочной железы (n=32)	6,86 ± 0,48	157,73 ± 11,97**	45,49 ± 3,09*	10,73 ± 3,15***	2,24 ± 1,62**	0,45 ± 0,25	7,85 ± 3,02	0,21 ± 0,21**	0,01 ± 0,01	366,53 ± 154,87
Лимфомы различной локализации (n=22)	5,76 ± 1,36*	130,09 ± 41,03*	38,6 ± 10,40	19,84 ± 33,86***	11,33 ± 32,33***	1,66 ± 3,99	7,32 ± 3,05*	0,27 ± 0,58**	0,02 ± 0,05	324,55 ± 148,24
Мастоцитомы (G3, G2 по Patnaik) (n=22)	6,37 ± 1,22	144,45 ± 32,58	41,59 ± 9,38	12,85 ± 11,33***	2,33 ± 2,65**	0,33 ± 0,24	9,84 ± 8,71	0,35 ± 0,28	0,01 ± 0,02	249,27 ± 106,18*
Меланомы различной локализации (n=6)	6,59 ± 0,33	139,33 ± 4,93	41,6 ± 3,81	12,91 ± 6,24**	2,13 ± 1,23	0,52 ± 0,48	9,31 ± 6,71	0,05 ± 0,07	0,05 ± 0,06	393,67 ± 211,24
Саркомы различной локализации (n=29)	6,26 ± 0,89	136,33 ± 22,70	41,78 ± 7,90	11,77 ± 7,38***	1,58 ± 0,89***	0,88 ± 1,39	9,55 ± 6,30	0,24 ± 0,38*	0,02 ± 0,04	354,92 ± 217,23
Гемангиосаркома селезенки (n=10)	5,67 ± 1,09*	130,80 ± 32,02*	37,62 ± 8,37	16,87 ± 8,42***	2,41 ± 0,16*	1,97 ± 2,44	15,05 ± 8,52	0,17 ± 0,27*	0,03 ± 0,05	462,20 ± 320,24
Плоскоклеточный рак (n=8)	6,49 ± 1,26	135,50 ± 34,30	40,18 ± 10,24	15,49 ± 12,17**	2,41 ± 2,24	0,42 ± 0,37	12,91 ± 10,34	1,37 ± 2,28	0,01 ± 0,02	283,00 ± 64,42*
Контрольная группа собак (n=30)	6,91 ± 1,52	144,64 ± 16,63	43,23 ± 5,54	11,38 ± 5,47	3,01 ± 0,75	0,31 ± 0,54	10,01 ± 2,47	0,69 ± 0,11	0,02 ± 0,01	321,84 ± 98,41

*Примечание таблица 1. Достоверные отличия между исследуемыми группами собак с онкологическими заболеваниями и контрольной группой по исследуемому показателю: * – p < 0,05; ** – p < 0,01; *** – p < 0,001*

метастатическим поражением лимфоузлов, в 3,05% при лимфоме с поражением лимфоузлов и в 1,5% низкодифференцированной мастоцитоме спинки носа. Следует отметить, что макроцитоз может быть следствием нарушения преаналитического этапа, длительного хранения образцов крови и набухания эритроцитов. У одной собаки с переходноклеточной карциномой мочевого пузыря диагностировали увеличение гемоглобина и гематокрита, связанные с дегидратацией животного (0,75% случаев).

Полицитемию диагностировали у 2 собак при карциноме легкого, что составило 1,5%.

Количество лейкоцитов у обследованных собак с новообразования различного гистогенеза составило от 3,7 до 121,38×10^9 кл/л, среднее значение 14,35±15,96×10^9 кл/л (95% ДИ 10,41-18,29×10^9 кл/л); лимфоцитов от 0,44 до 103,32×10^9 кл/л, среднее значение 3,85±14,02×10^9 кл/л (95% ДИ 0,14-7,56×10^9 кл/л); моноцитов от 0 до 13,01×10^9 кл/л, среднее значение 0,79±1,88×10^9 кл/л (95% ДИ 0,28-1,30×10^9 кл/л); нейтрофилов от 3,04 до 33,38×10^9 кл/л, среднее значение 9,44±6,25×10^9 кл/л (95% ДИ 7,74-11,14×10^9 кл/л); эозинофилов от 0 до 4×10^9 кл/л, среднее значение 0,32±0,62×10^9 кл/л (95% ДИ 0,15-0,49×10^9 кл/л), базофилов от 0 до 0,16×10^9 кл/л, среднее значение 0,02±0,03×10^9 кл/л (95% ДИ 0,01-0,03×10^9 кл/л).

Нейтрофильный лейкоцитоз обнаружили в 12,2% случаев на фоне: карциномы печени, почек и брюшной полости (4,6% от всех случаев новообразований, 20,7% от всех случаев карцином), мастоцитомы желудочно-кишечного тракта и множественной мастоцитомы с кожными проявлениями (3% и 18,1%), лимфомы (1,5% и 9,1%), гемангиосаркомы селезенки (1,5% и 20%), плоскоклеточного рака с локализацией на ушной раковине и метастазами в легких (1,5% и 25%) и меланомы ротовой полости (1,5% и 33%). Одновременно у собак с нейтрофильным лейкоцитозом при мастоцитоме диагностировали лимфоцитоз (1,5% от всех опухолей и 9% от всех случаев мастоцитом), при гемангиосаркоме селезенки и карциноме печени - моноцитоз (1,5% и 20%, 1,5% и 4,5% соответственно), при лимфоме - и лимфоцитоз, и моноцитоз (1,5% и 9%). Нейрофилия отмечалась в 3% случаев и была установлена при карциноме молочной железы и лимфоме кишечника. В 1,5% случаев наблюдали лимфоцитоз при опухолях молочной железы. Также при лимфоме и лимфангиосаркоме наблюдали эозинофилию в 3,1% случаев от всех исследуемых пациентов, при отсутствии других изменений в клиническом анализе крови.

Снижение уровня лейкоцитов обнаружили 12,2% случаев при лимфоме (3,05% случаев от всех новообразований и 18,2% от всех случаев лимфом), саркомах (4,6% и 21,4%), мастоцитомах (3,05% и 18,2%), рецидиве рака молочной железы с наличием метастатического поражения легких (1,5% и 6,3% от всех случаев карциномы молочной железы). Одновременно с лейкопенией при саркомах отмечали лимфопению (1,5% случаев) и лимфопению с моноцитопенией (3,1%), в частности при хондросаркомах. Также снижение общего количества лейкоцитов, лимфоцитов и моноцитов установили в 9,1% лимфом при локализации онкологического процесса в лимфоузлах (1,5% случаев от всех опухолей). При лимфомах лимфопению диагностировали в 45,6% случаев, в 36,4% случаев без изменения количества других групп лейкоцитов (6,2% от всех онкопациентов). Остеосаркомы также сопровождались лимфопенией в 2 случаях из 3 (1,5% от всех видов опухолей). Снижение количества моноцитов при отсутствии других отклонений в клиническом анализе крови зафиксировали при карциноме молочной железы, мастоцито-

ме кожи боковой брюшной стенки и карциноме легких, при которой также наблюдали полицитемию, частота встречаемости во всех случаях составила 1,5% от всех видов опухолей и 6,3%, 9,1% и 10% от случаев опухолей соответствующего гистогенеза соответственно.

Изменения лейкоцитарной формулы наблюдали в 75,4% случаях, в 66,2% обнаружили повышение процентного соотношения нейтрофилов, со сдвигом влево в 38,5% случаев, с одновременным уменьшение процентного соотношения только моноцитов в 6,2% случаях, лимфоцитов – в 18,5% случаях, а также с одновременным увеличение эозинофилов в 4,6% случаев (таблица 2).

Таблица 2 – Изменения лейкоцитарной формулы (лейкограммы) у собак с онкологическими заболеваниями.

Группа животных	Лимфоциты, %	Моноциты, %	Палочкоядерные нейтрофилы, %	Сегментоядерные нейтрофилы, %	Эозинофилы, %	Базофилы, %
	M±δ	M±δ	M±δ	M±δ	M±δ	M±δ
Референсный диапазон лаборатории	12,0-30,0	2,0-7,0	0,0-3,0	60,0-70,0	0,0-8,0	0,0-1,0
Собаки с онкопатологией (n=131)	18,34 ± 12,54**	4,36 ± 2,95	4,69 ± 4,30*	73,22 ± 15,15**	3,83 ± 11,39*	0,13 ± 0,27
Контрольная группа собак (n=30)	27,22 ± 4,76	3,55 ± 1,05	0,62 ± 1,38	67,05 ± 3,82	1,9 ± 1,67	0,1 ± 0,24

*Примечание. Достоверные отличия между группами собак с онкологическими заболеваниями и контрольной группой по исследуемому показателю: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,001$.*

Уменьшение процентного соотношения нейтрофилов регистрировали в 4,6% случаях, в 3,1% случаев при лимфоме, в одном случае с поражением лимфоузлов и одновременным повышение процентного соотношения эозинофилов, в других - с повышением процентного соотношения лимфоцитов и моноцитов. В 1,5% случаев снижение процентного содержания нейтрофилов наблюдали при карциноме молочной железы с одновременным увеличением процентного соотношения лимфоцитов. В 3,1% случаев отмечали только повышение процентного содержания моноцитов при опухолях молочной железы и плоскоклеточном раке, в 1,5% случаев отмечали повышение процентного соотношения моноцитов и эозинофилов с одновременным снижение уровня лимфоцитов.

Количество тромбоцитов у обследованных собак с онкологическими заболеваниями в клиническом анализе крови колебалось от 36 до 948×10^9 кл/л, среднее значение $320,69\pm166,78\times10^9$ кл/л (95% ДИ $279,51\text{-}361,87\times10^9$ кл/л). Тромбоцитопению диагностировали в 15,4% случаев, чаще всего при лимфомах (6,3% случаев от всех опухолей), а также при карциноме молочной железы (1,5% случаев), мастоцитоме кожи боковой брюшной стенки (1,5% случаев), меланоме слизистой оболочки губы (1,5% случаев), гемангиосаркоме селезенки (3,1% случаев) и карциноме легкого (1,5% случаев). В случаях лимфом и гемангиосарком селезенки у собак одновременно диагностировали снижение уровня эритроцитов, гемоглобина и гематокрита.

Тромбоцитоз обнаружили в 12,2%

случаях, при карциноме молочной железы в 6,1% случаев (25% от всех случаев опухолей молочной железы), карциноме почки – 1,5% случаев, гемангиосаркоме – 3,1% случаев и меланоме носового зеркала – 1,5% случаев.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Гематологические паранеопластические изменения являются частой патологией при новообразованиях различного гистогенеза. Анемия (18,4% случаев), лимфопения (16,8% случаев) и тромбоцитопения (15,4% случаев) являются наиболее частыми изменениями в клиническом анализе крови у собак с онкологическими заболеваниями. Нейтрофильный лейкоцитоз, лейкопения и тромбоцитоз имели идентичную частоту встречаемости, которая составила 12,2% случаев. Моноцитоз и лимфоцитоз, также имеющие одинаковую частоту выявления, диагностировали реже, в 4,6% случаев. Изменения лейкограммы наблюдали в 75,4% случаях: в 66,2% установили повышение процентного соотношения нейтрофилов, со сдвигом влево в 38,5% случаев, уменьшение процентного соотношения моноцитов в 6,2% случаях, лимфоцитов в 18,5% случаях, эозинофилов в 4,6% случаев.

При лимфоме отмечали лимфопению (45,6%), тромбоцитопению (36,4%), снижение количества эритроцитов (54,5%), гемоглобина (45,5%) и низкий гематокрит (45,5%). В клиническом анализе крови при карциноме молочной железы выявили тромбоцитоз (25%), тромбоцитопению, лимфопению или лимфоцитоз по 6,3% случаев, в лейкограмме – увеличение процентного соотношения нейтрофилов (56,6%), сдвиг влево (37,5%). Мастоцитомы сопровождались как лейокпенией, так и нейтрофильным лейкоцитозом с одинаковой частотой (18,2%), увеличением процентного соотношения нейтрофилов (81,1%), сдвигом влево (36,4%), уменьшением процентного соотношения лимфоцитов (18,2%) в лейкоцитарной формуле. При саркомах обнаружили лейкопению (21,4%), лимфопению (28,6%), моноцитопению (14,3%), в лейкограмме – повышение процентного соотношения нейтрофилов (57,1%) со сдвигом влево (28,6%). При гемангиосаркоме селезенки отмечали снижение количества эритроцитов, уровня гемоглобина и гематокрита (40%), тромбоцитоз (40%) и тромбоцитопению (40%). При плоскоклеточном раке выявили нейтрофильный лейкоцитоз, анемический синдром и снижение уровня гематокрита в 25% случаев.

Гематологические паранеопластические синдромы не только являются распространённым осложнением злокачественных новообразований, но и имеют прогностическое значение, а также препятствуют проведению своевременного хирургического лечения и назначению адъювантной терапии. Анемия и тромбоцитопения являются абсолютными противопоказаниями для химиотерапии и лучевой терапии. Гематологические паранеопластические синдромы ухудшают эффективность проводимого лечения, снижают качество и длительность жизни собак со злокачественными новообразованиями. Выявление отклонений в клиническом анализе крови может быть использовано как ранний маркер наличия онкологического процесса в организме собак, и, повышая онконастороженность ветеринарного врача клинициста, способствовать своевременной постановке диагноза с последующим лечением и большей вероятностью выздоровления или ремиссии.

HEMATOLOGICAL MANIFESTATIONS OF PARANEOPLASTIC SYNDROME IN DOGS

Vilmis D. A.* – candidate of veterinary sciences, associate professor of the department of diseases of small domestic, laboratory and exotic animals (ORCID 0009-0007-0921-627X)

Russian Biotechnological University "ROSBIOTECH"

*vilmisda@mgupp.ru

ABSTRACT

Hematological paraneoplastic syndromes are common but poorly studied complications in veterinary oncology, manifested by a variety of hematological changes associated with the system effects of malignant neoplasms on the animal's body. The article presents the results of studying hematological paraneoplastic syndromes, the research involves 131 dogs with spontaneous malignant neoplasms. We used a comprehensive methodological approach, including clinical, instrumental, morphological and hematological research methods. During the morphological study we found out that carcinomas were diagnosed in 33.6% of cases in dogs, of which breast carcinoma was registered in 24.4%, in other cases lung, liver, kidney and abdominal lesions were noted. We also discovered: sarcomas in 22.1% of cases, including hemangiosarcoma of the spleen in 7.6%; and gastrointestinal lymphoma in 16.8% of cases and lymph nodes; in 16.8% of mastocytomas. in 4.6% of melanomas of the skin and mucous membranes; squamous cell carcinoma in 6.1% of cases. As a result of hematological studies, it was revealed that anemia syndrome (18.4%), lymphopenia (16.8%) and thrombocytopenia (15.4%) are the most frequent changes in clinical blood analysis in dogs with oncological diseases. Neutrophilic leukocytosis, leukopenia and thrombocytosis had an identical incidence, which was 12.2% of cases. Monocytosis and lymphocytosis were diagnosed less frequently, in 4.6% of cases. Leukogram changes were observed in 75.4% of cases: in 66.2%, an increase in the percentage of neutrophils was found, with a shift to the left in 38.5% of cases, a decrease in the percentage of lymphocytes in 18.5% of cases, monocytes in 6.2% of cases, eosinophils in 4.6% of cases. The frequency of hematological changes in the general clinical blood analysis of dogs depended on the histogenesis of the tumor. Hematological paraneoplastic syndromes can be used as an early marker of the oncological process, and they can also prevent timely prescription of treatment. Anemia and thrombocytopenia are absolute contraindications for chemotherapy and radiation therapy.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Добсон Джейн М., Ласцеллес Б., Дункан К. Онкология собак и кошек /Добсон Джейн М., Ласцеллес Б., Дункан К.// М.: 2017. – С. 419-432.

2.Трофимцов Д. В., Вилковыский И. Ф. и др. Онкология мелких домашних животных / Трофимцов Д. В., Вилковыский И.Ф. и др // М.: 2018. – С. 24-38.

3.Withrow and MacEwen's. Small Animal Clinical Oncology. 6th Edition by David M. Vail / Withrow and MacEwen's// Julius Liptak and Publisher Saunders. – 2020. - P. 98-108.

4.Мамедов М.К. Системное действие злокачественной опухоли на организм как основа патогенез онкологических заболеваний // Биомедицина (Баку), no. 1, 2007, pp. 3-10.

5.Weller RE. Paraneoplastic disorders in dogs with hematopoietic tumors. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 1985 Jul;15 (4):805-16. doi: 10.1016/s0195-5616(85) 50037-6. PMID: 3898535.

6.Soare T, Noble PJ, Hetzel U, Fonfara S, Kipar A. Paraneoplastic syndrome in haemophagocytic histiocytic sarcoma in a dog. J Comp Pathol. 2012 Feb-Apr;146(2-3):168-74. doi: 10.1016/j.jcpa.2011.05.006. Epub 2011 Jul 7. PMID: 21741052.

7.Кулибаба Т.Г., Пчелин И.Ю., Слепых Л.А. Особенности анемического синдрома у онкологических пациентов // Juvenis scientia, no. 9, 2018, pp. 10-16.

8.Лисицкая К.В. Анемия у пациентов с опухолевыми заболеваниями: от механизмов к диагностике и лечению // Современная ветеринарная медицина. – 2017. - №2.

9.Almir P d S, Olívia M M B. Paraneoplastic Syndromes in Dogs. Appro Poult Dairy & Vet Sci. 3(2). APDV.000560.2018. doi:10.31031/APDV.2018.03.000560

10.Parachini-Winter C, Carioto LM, Gara-Boivin C. Retrospective evaluation of anemia and erythrocyte morphological anomalies in dogs with lymphoma or inflammatory bowel disease. J Am Vet Med Assoc. 2019

Feb 15;254(4):487-495. doi: 10.2460/javma.254.4.487. PMID: 30714871.
11.Hristov, Ts. T, Complete blood counts in dogs with haemangiosarcoma of the spleen. Bulg. J. Vet. Med, 2020. ISSN 1311-1477; DOI: 10.15547/bjvm.2020-0064
12.Miller A.G., Morley P.S., Rao S., Avery A.C., Lana S.E., Olver C.S. Anemia is associated with decreased survival time in dogs with lymphoma. J Vet Intern Med. 2009;23 (1):116–122.
13.Панахова Д. З. Анемия хронических заболеваний // Вестник гематологии, vol. 13, no. 1, 2017, pp. 33-39.
14.SAMUELS AJ, BIERMAN HR. Anemia in patients with neoplastic diseases. Calif Med. 1956 Mar;84(3):180-4. PMID: 13304674; PMCID: PMC1532925.
15. Tumielewicz KL, Hudak D, Kim J, Hunley DW, Murphy LA. Review of oncological emergencies in small animal patients. Vet Med Sci. 2019 Aug;5(3):271-296. doi: 10.1002/vms3.164. Epub 2019 Mar 21. PMID: 30900396; PMCID: PMC6682806.

REFERENCES

1. Dobson Jane M., Lascelles B., Duncan K. Oncology of dogs and cats /Dobson Jane M., Lascelles B., Duncan K.// M.: 2017. – pp. 419-432.
2. Trofimtsov D. V., Vilkovisky I. F. et al. Oncology of small pets / Trofimtsov D. V., Vilkovisky I.F. and others // M.: 2018. – pp. 24-38.
3. Withrow and MacEwen's. Small Animal Clinical Oncology. 6th Edition by David M. Vail / Withrow and MacEwen's// Julius Liptak and Publisher Saunders. – 2020. - P. 98-108.
4. Mammadov M.K. Systemic effect of a malignant tumor on the body as a basis for the pathogenesis of oncological diseases // Biomedicine (Baku), No. 1, 2007, pp. 3-10.
5. Weller RE. Paraneoplastic disorders in dogs with hematopoietic tumors. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 1985 Jul;15 (4):805-16. doi: 10.1016/s0195-5616(85) 50037-6. PMID: 3898535.
6.Soare T, Noble PJ, Hetzel U, Fonfara S, Kipar A. Paraneoplastic syndrome in haemophagocytic histiocytic sarcoma in a dog. J Comp Pathol. 2012 Feb-Apr;146(2-3):168-74. doi: 10.1016/j.jcpa.2011.05.006. Epub 2011 Jul 7. PMID: 21741052.
7. Kulibaba T.G., Pchelin I.Yu., Slepykh L.A. Features of the anemia syndrome in oncological patients // Juvenis scientia, No. 9, 2018, pp. 10-16.
8. Lisitskaya K.V. Anemia in patients with tumor diseases: from mechanisms to diagnosis and treatment // Modern veterinary medicine. – 2017. - №2.
9.Almir P d S, Olívia M M B. Paraneoplastic Syndromes in Dogs. Appro Poult Dairy & Vet Sci. 3(2). APDV.000560.2018. doi:10.31031/APDV.2018.03.000560
10.Parachini-Winter C, Carioto LM, Gara-Boivin C. Retrospective evaluation of anemia and erythrocyte morphological anomalies in dogs with lymphoma or inflammatory bowel disease. J Am Vet Med Assoc. 2019 Feb 15;254(4):487-495. doi: 10.2460/javma.254.4.487. PMID: 30714871.
11.Hristov, Ts. T, Complete blood counts in dogs with haemangiosarcoma of the spleen. Bulg. J. Vet. Med, 2020. ISSN 1311-1477; DOI: 10.15547/bjvm.2020-0064
12.Miller A.G., Morley P.S., Rao S., Avery A.C., Lana S.E., Olver C.S. Anemia is associated with decreased survival time in dogs with lymphoma. J Vet Intern Med. 2009;23 (1):116-122.
13. Panakhova D. Z. Anemia of chronic diseases // Bulletin of Hematology, vol. 13, No. 1, 2017, pp. 33-39.
14. SAMUELS AJ, BIERMAN HR. Anemia in patients with neoplastic diseases. Calif Med. 1956 Mar;84(3):180-4. PMID: 13304674; PMCID: PMC1532925.
15. Tumielewicz KL, Hudak D, Kim J, Hunley DW, Murphy LA. Review of oncological emergencies in small animal patients. Vet Med Sci. 2019 Aug;5(3):271-296. doi: 10.1002/vms3.164. Epub 2019 Mar 21. PMID: 30900396; PMCID: PMC6682806.

УДК: 617.583.1-001.6-089:636.7
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.392

МОЛЕКУЛЯРНО-ОРИЕНТИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ ОПУХОЛЕЙ ЛЁГКОГО У ЖИВОТНЫХ ПРИ BRAF МУТАЦИЯХ – ВОЗМОЖНОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Назарова А.В.* – канд. ветеринар. наук, асс. каф. общей, частной и оперативной хирургии (ORCID 0000-0003-4726-6204); **Кузнецова Т.Ш.** – канд. биол. наук, доц. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID 0000-0002-8981-0696); **Семенов Б.С.** – д-р ветеринар. наук, проф., проф. каф. общей, частной и оперативной хирургии (ORCID 0000-0003-0149-9360); **Колодяжный П.А.** – студ. (ORCID 0009-0009-4166-662X).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* anna.v.nazarova@mail.ru

Ключевые слова: *опухоль лёгкого, рак лёгкого, химиотерапия, молекулярно-ориентированная терапия, иммунотерапия, таргетные препараты, BRAF, ERK, MEK.*

Key words: *lung neoplasia, lung cancer, chemotherapy, molecular-oriented therapy, immunotherapy, targeted drugs, BRAF, ERK, MEK.*

Поступила: 19.01.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Понятие «рак лёгкого» (РЛ) объединяет различные по происхождению, гистологической структуре, клиническому течению и результатам лечения злокачественные эпителиальные опухоли. РЛ занимает первое место по заболеваемости мужчин в России и по смертности — в мире. У животных РЛ диагностируется гораздо реже, однако с ростом количества животных, содержащихся в городах, заболеваемость РЛ увеличивается, так как животные-компаньоны подвергаются тем же факторам риска, что и люди. Нами был проведён ретроспективный анализ историй болезни 43 животных (28 кошек и 15 собак), поступивших на лечение в ветеринарные клиники «ВЕГА» в период с 2020 по 2023 года. Критерием включения животных в исследование был диагностированный по результатам инструментальных и лабораторных исследований неопластический процесс в грудной полости и лёгких. Рекомендуемая у человека высокодозная внутривенная химиотерапия неэффективна при лечении РЛ у животных, поэтому необходимы поиск, разработка и внедрение в клиническую практику таргетных препаратов, которые будут эффективны у животных. Поскольку наиболее широко применяемой в медицине человека группой таргетных препаратов являются низкомолекулярные ингибиторы киназ, воздействующие на соответствующую молекулярную мишень в опухоли, в ветеринарной медицине актуальными являются разработка методов молекулярно-генетических исследований опухолевых клеток у животных, которые сде-

лают их доступными для практического применения ветеринарными онкологами. Выбор методов лечения и прогноз зависят от стадии болезни, поэтому вопрос о внедрении в ветеринарную практику биомаркеров различных типов и стадий онкологических процессов заслуживает проведения исследований. Также для повышения эффективности лечения рекомендовано проведение исследований и разработка шкалы стадирования рака лёгкого для кошек.

ИСПОЛЬЗУЕМАЯ ТЕРМИНОЛОГИЯ / TERMINOLOGY

Иммунотерапия — медикаментозная стимуляция иммунной системы онкологического больного для лечения рака.

Молекулярно-ориентированная (таргетная) терапия — терапия онкологических заболеваний с использованием противоопухолевых препаратов, взаимодействующих с определёнными молекулярными мишенями, имеющими важное значение для возникновения и развития конкретной опухоли.

Сигнальный путь ERK — один из ключевых сигнальных путей *MAPK* (англ. *mitogen-activated protein kinase*), центральной MAP-киназой которого является ERK (англ. *extracellular signal-regulated kinase*).

Таргетные препараты — препараты, действие которых направлено на онкогенные белки организма, которые оказывают влияние на канцерогенез и способность опухоли к росту и метастазированию.

MEK — митоген-активируемая протеинкиназа, которая является компонентом сигнального пути ERK.

RAF-киназы — ферменты, необходимые для передачи сигналов внутри клетки.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Рак лёгкого (РЛ) — собирательное понятие, объединяющее различные по происхождению, гистологической структуре, клиническому течению и результатам лечения злокачественные эпителиальные опухоли. Развиваются они из покровного эпителия слизистой оболочки бронхов, бронхиальных слизистых желез бронхиол и легочных альвеол [1].

По заболеваемости у человека рак лёгкого занимает первое место среди злокачественных опухолей у мужчин в России, а по смертности — первое место в мире [8]. В отличие от человека частота первичного рака лёгких у животных-компаньонов, поступающих на вскрытие, составляет менее 1%, а показатели заболеваемости у собак варьируют от 4,2 на 10 000 собак в год до 15 на 100 000 собак в год [3]. Возможно, именно различие в инцидентности РЛ у животных и человека является причиной сравнительно небольшого количества исследований этого заболевания и отсутствия клинических рекомендаций по лечению РЛ у собак и кошек, в то время как для человека многочисленные клинические рекомендации обновляются каждые три года и включают результаты исследований с высоким уровнем убедительности рекомендаций и уровнем достоверности доказательств [5].

Этиология и патогенез РЛ у человека достаточно хорошо изучены. У подавляющего большинства пациентов, страдающих РЛ (85–90%) развитие заболевания связано с курением, как активным, так и пассивным. Кроме того, к факторам риска относят облучение (проведенную ранее лучевую терапию (ЛТ) по поводу других опухолей внутригрудной локализации), воздействие радона, асбеста, мышьяка [2, 22].

У собак и кошек на настоящий момент достоверно не доказано наличие определенных факторов риска. Но была обнаружена связь между вдыханием загрязненного воздуха и раком лёгких у собак с антракозом (вдыхание угольной пыли, вызывающее развитие фиброза). Цитологический анализ жидкости после бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) выявил повышенный уровень антракоза у собак, подвергшихся пассивному воздействию табачного дыма. В экспериментальных условиях у подопытных собак, которым сигаретный дым вводился через трахеостому (при наличии или отсутствии воздействия асбеста), рак лёгких развивался

с большей частотой, чем у собак контрольной группы.

Экспериментально индуцированное воздействие радиации, также значительно увеличивает риск развития рака лёгких у лабораторных собак при вдыхании таких веществ, как плутоний.

Таким образом, нахождение в городской и воздействие пассивного курения считаются потенциальными причинами рака лёгких у собак, что в условиях постоянного повышения количества животных, которые содержатся в домашних условиях, вызывает также повышение заболеваемости этим видом рака у животных-компаньонов и делает актуальным поиск, разработку и адаптацию новых методов лечения РЛ у животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводилось на базе Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины, а также сети ветеринарных клиник ВЕГА г. Санкт-Петербурга.

Проведён ретроспективный анализ историй болезни 43 животных с выявленными новообразованиями в лёгких, поступивших на лечение в ветеринарные клиники «ВЕГА» в период с 2020 по 2023 года.

В нашем исследовании приняли уровень значимости равным 95% (p=0,05). Статистическую обработку полученных данных выполнили в программе BioStat, AnalystSoft Inc., версия 7.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Исходные данные включённых в исследование животных представлены в таблице 1, с указанием 95%-го доверительного интервала (95% ДИ).

Проанализировав породную принадлежность кошек, включённых в исследование, мы получили следующие результаты: европейские короткошёрстные кошки — 18 кошек (64,3%), британская — 2 кошки (7,1%), шотландская вислоухая, абиссинская, донской сфинкс, корниш-рекс, мейн-кун, ориентальная и сиамская породы — по одной кошке (по 3,6%).

Проанализировав породную принадлежность собак, включённых в исследование, мы получили следующие результаты: собаки смешанной породы — пять собак (33,3%), йоркширский терьер — три собаки (20,0%), по одной собаке (по 6,7%) пород бультерьер, джек-рассел-терьер, кокер-спаниель, такса, тойтерьер, чихуахуа, шотландский сеттер.

Критерием включения животных в исследование был диагностированный по результатам инструментальных (рентгенография, компьютерная томография) и лабораторных (цитологическое и гистологическое) исследований неопластический процесс в грудной полости / лёгких.

Таблица 1 – Исходные данные включённых в исследование пациентов

Показатель	Кошки	Собаки
Количество животных	28	15
Вид животных	Felis domestica (Felis catus)	Canis lupus familiaris
Пол животных	Самцов 13 (53,6%) Самок 15 (53,6%)	Самцов 7 (46,7%) Самок 8 (53,3%)
Репродуктивный статус	Интактные 12 (42,9%) Кастрированы 16 (57,1%)	Интактные 11 (73,3%) Кастрированы 4 (26,7%)
Средний возраст (95% ДИ для возраста)	11,4 лет (9,8–13,1 лет)	12,4 лет (10,5–14,3 лет)
Средний вес (95% ДИ для веса)	4,8 кг (4,0–5,5 кг)	12,6 кг (6,7–18,5 кг)

Полученные нами результаты не противоречат литературным данным, согласно которым средний возраст заболевших собак составляет 9,3–11,5 лет, а кошек — 12–13 лет [31].

Наше исследование не выявило породной предрасположенности. Наибольшая представленность европейских короткошерстных кошек в выборке наиболее вероятно связана с тем, что большинство кошек, содержащихся в домашних условиях, являются представителями именно этой аборигенной породы.

В литературе отмечается породная предрасположенность к развитию РЛ у персидских кошек, а также возможная породная предрасположенность с собак пород боксер, доберман, австралийская овчарка (ауси), ирландский сеттер и бернский зенненхунд [3]. В этой группе особого внимания при проведении химиотерапии требуют австралийские овчарки, которые могут быть носителями мутаций гена MDR, что является противопоказанием для применения многих химиотерапевтических препаратов.

Выбор методов лечения и прогноз зависят от стадии болезни как у человека, так и у животных. У собак для стадирования используется шкала Canine lung carcinoma stage classification (CLCSC), адаптированная для собак из Human lung carcinoma stage classification (HLCSC) [13, 19]. Для кошек на настоящий момент отдельная шкала стадирования не разработана.

Также является актуальным для ветеринарной медицины поиск биомаркеров, ассоциированных с канцерогенезом. В частности, белок ядерного матрикса-22 *(NMP-22, Nuclear Matrix Protein)* — это особый протеин, который вырабатывают раковые клетки, широко используется в медицине человека в качестве прогностического и диагностического инструмента при различных карциномах. Было выявлено, что в экзосомах мочи у собак с уротелиальной карциномой, уровень NMP-22 значительно повышен по сравнению со здоровыми собаками. Таким образом, NMP-22 экзосом мочи может рассматриваться как один из инструментов жидкостной биопсии для диагностики уротелиальной карциномы у собак [25].

Комбинированная высокодозная внутривенная химиотерапия (ХТ) у человека рекомендуется как в адъювантном, так и в неоадъювантном режимах, а также в качестве паллиативного лечения при немелкоклеточном раке лёгкого (НМРЛ) IV стадии. В схемы ХТ включаются препараты *платины* (карбоплатин, цисплатин), а также *антитубулиновые агенты* (винорелбин, паклитаксел, доцетаксел) и *антиметаболиты* (гемцитабин). Несмотря на то, что эти препараты используются у животных при лечении разных видов рака, была исследована и доказана их неэффективность при РЛ у собак как при монотерапии, так и при комбинированном использовании [21]. Здесь нужно отметить, что в этом же исследовании был применён и разработанный для ветеринарного применения мультикиназный ингибитор *тоцераниб*, который так же не показал эффективности при его применении в адъювантном режиме. *Ломустин*, который применялся при первичной гистиоцитарной саркоме лёгкого, также не показал свою эффективность [14, 20]. Была отмечена ограниченная эффективность ингаляционной ХТ у собак с первичными и метастатическими опухолями лёгких. Общая частота ответов на паклитаксел (как при саркомах, так и при карциномах) и на доксорубицин (только при саркомах) составила не более 27% (из них полный ответ наблюдался только в 4,5% случаев).

Эффективность комбинированной метрономной ХТ циклофосфамидом (6-10 мг/м^2), пироксикамом (0,3 мг/кг каждые 24 или 48 часов) и талидомидом (5 мг/кг 1 раз в сутки на ночь) была отмечена у собак с неоперабельными формами рака и/или метастатическим поражением лимфатических узлов [23].

Всё вышесказанное указывает на необходимость изучения и внедрения молекулярно-ориентированной (таргетной) терапии в протоколы лечения животных с раком лёгкого. Благодаря повышенному вниманию к этой теме

в медицине человека в последние десятилетия в ДНК опухолевых клеток были обнаружены различные мутации, способствующие активации сигнальных путей, влияющих на инвазию, пролиферацию, ангиогенез и малигнизацию опухолевых клеток [6].

В этой работе мы рассмотрим только низкомолекулярные таргетные препараты. Поскольку эти препараты получают с помощью химического синтеза, а не биотехнологий, они обладают умеренной специфичностью, что позволяет применять их как у человека, так и у животных. Благодаря малым размерам молекул, рассматриваемые таргетные препараты могут проникать внутрь клетки и действовать на широкий спектр онкогенных белков-мишеней. Также низкомолекулярные таргетные препараты могут преодолевать ГЭБ, что позволяет использовать их для профилактики и лечения метастазов в головном мозге. Возможность перорального пути введения делает их использование удобным при длительной терапии.

Наиболее широко применяемой группой таргетных препаратов являются *низкомолекулярные ингибиторы киназ*, которые, будучи структурными аналогами АТФ, конкурентно связываются с каталитическим центром белка-мишени и прерывают каскад реакций фосфорилирования, передающих сигнал от рецептора в ядро клетки.

Согласно исследованиям последних лет, первичный рак лёгких у собак напоминает рак лёгких человека по гистопатологическим характеристикам и профилям экспрессии генов [26], что позволяет использовать ингибиторы киназ при лечении РЛ у животных. В медицине человека основными мишенями таргетной терапии являются белки BRAF+, EGFR+, ALK/ROS1+ сигнальных путей.

Наиболее перспективным направлением в таргетной терапии различных видов рака у животных является применение BRAF ингибиторов, а также совместное применение BRAF/MEK ингибиторов, так как результаты многих исследований последних лет показывают, что активация сигнальных путей BRAF/MEK, RAS/MAPK и/или PI3K/AKT/mTOR характерна для обоих видов — человека и собаки [30].

Активация одного или обоих путей передачи сигнала BRAF/MEK и RAS/MAPK опосредует онкогенность нескольких видов рака собаки и человека, включая меланому [18, 32], рак мочевого пузыря и предстательной железы [9, 11], гистиоцитарную саркому [28], рак лёгкого [10, 26].

B-Raf (серин/треониновая протеинкиназа B-raf, BRAF) — цитозольная протеинкиназа семейства MAP3K, участвует в формировании и регуляции MAPK/ERK сигнальных путей, которые влияют на клеточное деление, дифференцировку и секрецию. У человека выявлено более 30 мутаций гена BRAF, которые связаны со злокачественными опухолями разных типов. В 90% случаев раковый процесс связан с заменой тимина на аденин в нуклеотиде 1799 гена BRAF, что приводит к замене валина на глутаминовую кислоту в кодоне 600 (V600E) активирующего региона. Мутации типа V600E переводят фермент BRAF в постоянно активированное состояние, что приводит к непрерывной стимуляции клеточной пролиферации, не зависящей от внешних факторов. У человека эта мутация особенно часто наблюдается при папиллярной карциноме щитовидной железы, колоректальном раке, меланоме и немелкоклеточном раке лёгкого [24].

При возникновении мутации в гене BRAF V600E, кодирующем данные ферменты, необходимые для передачи сигналов внутри клетки, происходит нарушение их строения, что приводит к постоянным бесконтрольным сигналам роста и деления клетке. Такое нарушение является одной из причин трансформации нормальной клетки в опухолевую.

Мутация BRAF V595E у собак соответствует мутации BRAF V600E человека [15, 16]. Однако, несмотря на схожесть мутаций, в исследованиях L. Küchler [17] показано, что при лечении карциномы мочевыводящих путей у собак, реакция

раковых клеток с мутацией BRAF V595E на применение таргетной терапии отличается от реакции человеческих клеток с мутацией BRAF V600E. Мутантные клеточные линии собак были более чувствительны к *сорафенибу* по сравнению с *вемурафенибом*.

МЕК — митоген-активируемые протеинкиназы, которые являются важнейшими компонентами сигнального пути ERK (киназы, регулируемой внеклеточным сигналом). При меланоме и других видах рака этот путь часто активируют мутированные формы гена BRAF, что в свою очередь активирует МЕК и стимулирует рост опухолевых клеток.

Скрининг лекарственных средств с использованием клеток гистиоцитарной саркомы, полученных от собак с новообразованиями, выявил, что эти клетки особенно чувствительны к ингибитору МЕК траметинибу [28]. Поскольку собаки — единственный вид животных, у которого гистиоцитарная саркома спонтанно развивается с заметной частотой, собака может представлять ценность в качестве системы трансляционной модели.

В исследовании чувствительности к ингибитору MEK1/2 траметинибу 12 из 33 линий раковых клеток собак (из десяти типов рака) были чувствительны к траметинибу [10]

Препараты *дабрафениба* (ингибитор BRAF) и *траметиниба* (высокоселективный аллостерический ингибитор активации митоген-активируемых протеинкиназ 1 (MEK1) и 2 (MEK2)) усиливают эффективность друг друга и поэтому рекомендуется их совместное применение [12, 27].

Взаимная перекрестная активация между BRAF/MEK и RAS/MAPK путями может быть источником лекарственной устойчивости, преодолеть которую позволяет применение траметиниба, что подтверждают исследования как у человека [4], так и у животных [30].

У человека при РЛ таргетная терапия рекомендуется всем пациентам, имеющим в опухоли соответствующую молекулярную мишень. Но если в медицине человека молекулярно-генетические исследования опухолевых клеток стали рутинной практикой в клиниках [6], то в ветеринарной медицине этот вопрос остаётся открытым.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Исследования выявили, что высокодозная внутривенная химиотерапия неэффективна при лечении РЛ у животных, что делает актуальным поиск, разработку и внедрение в клиническую практику таргетных препаратов, которые будут эффективны у животных.

Актуальными являются разработка методов молекулярно-генетических исследований опухолевых клеток у животных, которые сделают их доступными для практического применения ветеринарными онкологами, что позволит значительно повысить эффективность терапии различных видов рака у животных.

Вопрос о внедрении в ветеринарную практику биомаркеров различных типов и стадий онкологических процессов является актуальными и заслуживает проведения исследований.

Для повышения эффективности лечения также рекомендована разработка шкалы стадирования рака лёгкого для кошек.

MOLECULAR-ORIENTED THERAPY OF LUNG CANCER IN ANIMALS WITH BRAF MUTATIONS – THE POSSIBILITIES AND LIMITATIONS OF THE METHOD

Nazarova A.V. – Candidate of Veterinary Sciences, Assistant of the Department of Surgery (ORCID: 0000-0003-4726-6204); **Kuznetsova T.Sh. –** Candidate of Biological Sciences, docent of the Department of Genetic and Reproductive Biotechnologies (ORCID: 0000-0002-8981-0696); **Semenov B.S. -** Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Professor of the Department of Surgery (ORCID: 0000-0003-0149-9360); **Kolodyazhny P.A.** – student (ORCID: 0009-0009-4166-662X)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* anna.v.nazarova@mail.ru

ABSTRACT

Lung cancer (LC) is malignant epithelial tumors that differ in origin, histological structure, clinical course, and treatment results. Lung cancer ranks first in terms of male morbidity in Russia, and in terms of mortality in the world. In animals, LC is diagnosed much less frequently, but with an increase in the number of animals kept in cities, the incidence of LC increases, since companion animals are exposed to the same risk factors as humans. We conducted a retrospective analysis of the medical records of 43 animals (28 cats and 15 dogs) admitted to the VEGA veterinary clinics for treatment in the period from 2020 to 2023. The criterion for the inclusion of animals in the study was a tumor process in the thoracic cavity and lungs, diagnosed by instrumental and laboratory methods. High-dose intravenous chemotherapy, which is used in humans, is ineffective in the treatment of LC in animals, therefore, it is necessary to search, develop and introduce into clinical practice targeted drugs that will be effective in animals. Since the most widely used group of targeted drugs in human medicine are low-molecular kinase inhibitors that act on the corresponding molecular target in the tumor, the development of molecular genetic methods available for practical use by veterinary oncologists for the study of tumor cells in animals is relevant in veterinary medicine. The choice of treatment methods and prognosis depend on the stage of the disease, therefore, the issue of introducing biomarkers of various types and stages of oncological processes into veterinary practice deserves research. Also, to improve the effectiveness of treatment, it is recommended to conduct research and develop a lung cancer staging scale for cats.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Клинические рекомендации – Злокачественное новообразование бронхов и легкого – МЗ РФ / АОР – 2021-2022-2023 (31.05.2021) – Утверждены Минздравом РФ

2.Клинические рекомендации – Злокачественное новообразование бронхов и легкого – «Ассоциация онкологов России» и «Российское общество клинической онкологии» (RUSSCO) – Одобрено на заседании научно-практического совета Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол от 25.12.2020 № 17-4/4884)

3.Быченко, Д. Современные методы диагностики, лечения и степень выживаемости при первичной неоплазии легких у собак / Д. Быченко, Е. Д. Зиньков // Наукоёмкие исследования как основа инновационного развития общества: сборник статей Международной научно-практической конференции, Калуга, 27 ноября 2021 года. – Уфа: Общество с ограниченной ответственностью "ОМЕГА САЙНС", 2021. – С. 280-283.

4.Мустафин, Р. Н. Роль мутаций в гене NF1 в спорадическом канцерогенезе / Р. Н. Мустафин // Успехи молекулярной онкологии. – 2021. – Т. 8, № 3. – С. 25-33. – DOI 10.17650/2313-805X-2021-8-3-25-33.

5.Назарова, А. В. Актуальность повышения уровня доказательности клинических исследований в ветеринарии / А. В. Назарова, Т. Ш Кузнецова, Б. С. Семенов, В. Н. Виденин, А. Ю. Нечаев // Материалы Международной научно-практической конференции «Теория и практика ветеринарной фармации, экологии и токсикологии в АПК», посвящённой 100-летию кафедры фармакологии и токсикологии СПбГУВМ. — 2021. — С. 171–173.

6.Тюляндин, С. А. Таргетная терапия: двадцать лет успехов и поражений / С. А. Тюляндин // Практическая онкология. – 2019. – Т. 20, № 4. – С. 274-288. – DOI 10.31917/2004274.

7.Феланюк, Е. Ю. Сердечно-сосудистые осложнения у больных немелкоклеточным раком легких: современное состояние проблемы / Е. Ю. Феланюк, Н. Г. Ложкина, А. А. Филиппов // Медико-фармацевтический журнал Пульс. – 2023. – Т. 25, № 1. – С. 56-65. – DOI 10.26787/nydha-2686-6838-2023-25-1-56-65.

8.Щапкова, М. М. Современные представления о лечении рака легких / М. М. Щапкова, В. А. Кондрашов, М. Г. Пугачева // Роль научных кризисов в развитии

современного общества. Современная медицина. Теория и практика : Материалы международной научно-практической конференции, Санкт-Петербург, 23–26 октября 2018 года. – Санкт-Петербург: Общество с ограниченной ответственностью "Центр профессионального менеджмента "Академия Бизнеса", 2018. – С. 94-95.

9.Cronise KE, Hernandez BG, Gustafson DL, Duval DL. Identifying the ErbB/MAPK Signaling Cascade as a Therapeutic Target in Canine Bladder Cancer. Mol Pharmacol. 2019 Jul;96(1):36-46. doi: 10.1124/mol.119.115808.

10.Das S, Idate R, Cronise KE, Gustafson DL, Duval DL. Identifying Candidate Druggable Targets in Canine Cancer Cell Lines Using Whole-Exome Sequencing. Mol Cancer Ther. 2019 Aug;18(8):1460-1471. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-18-1346.

11.Elbadawy M, Sato Y, Mori T, Goto Y, Hayashi K, Yamanaka M, Azakami D, Uchide T, Fukushima R, Yoshida T, Shibutani M, Kobayashi M, Shinohara Y, Abugomaa A, Kaneda M, Yamawaki H, Usui T, Sasaki K. Anti-tumor effect of trametinib in bladder cancer organoid and the underlying mechanism. Cancer Biol Ther. 2021 Jun 3;22(5-6):357-371. doi: 10.1080/15384047.2021.1919004.

12.Ellens H, Johnson M, Lawrence SK, Watson C, Chen L, Richards-Peterson LE. Prediction of the Transporter-Mediated Drug-Drug Interaction Potential of Dabrafenib and Its Major Circulating Metabolites. Drug Metab Dispos. 2017 Jun;45(6):646-656. doi: 10.1124/dmd.116.073932.

13.Ichimata Masanao Prognosis of primary pulmonary adenocarcinoma after surgical resection in small-breed dogs: 52 cases (2005-2021) May 2023 Journal of Veterinary Internal Medicine 37(4) DOI:10.1111/jvim.16739

14.Kagawa Y, Nakano Y, Kobayashi T, Asano K, Takagi S. Localized pulmonary histiocytic sarcomas in Pembroke Welsh Corgi. J Vet Med Sci. 2016 Jan;77(12):1659-61. doi: 10.1292/jvms.15-0284.

15.Kobayashi K, Takemura RD, Miyamae J, Mitsui I, Murakami K, Kutara K, Saeki K, Kanda T, Okamura Y, Sugiyama A. Phenotypic and molecular characterization of novel pulmonary adenocarcinoma cell lines established from a dog. Sci Rep. 2023 Oct 5;13(1):16823. doi: 10.1038/s41598-023-44062-1.

16.Kobayashi M, Onozawa M, Watanabe S, Nagashima T, Tamura K, Kubo Y, Ikeda A, Ochiai K, Michishita M, Bonkobara M, Kobayashi M, Hori T, Kawakami E. Establishment of a BRAF V595E-mutant canine prostate cancer cell line and the antitumor effects of MEK inhibitors against canine prostate cancer. Vet Comp Oncol. 2023 Jun;21(2):221-230. doi: 10.1111/vco.12879.

17.Küchler L, Posthaus C, Jäger K, Guscetti F, van der Weyden L, von Bomhard W, Schmidt JM, Farra D, Aupperle-Lellbach H, Kehl A, Rottenberg S, de Brot S. Artificial Intelligence to Predict the BRAF V595E Mutation in Canine Urinary Bladder Urothelial Carcinomas. Animals (Basel). 2023 Jul 25;13(15):2404. doi: 10.3390/ani13152404.

18.Lee BH, Neela PH, Kent MS, Zehnder AM. IQGAP1 is an oncogenic target in canine melanoma. PLoS One. 2017 Apr 26;12(4):e0176370. doi: 10.1371/journal.pone.0176370.

19.Lee BM, Clarke D, Watson M, Laver T. Retrospective evaluation of a modified human lung cancer stage classification in dogs with surgically excised primary pulmonary carcinomas. Vet Comp Oncol. 2020 Dec;18(4):590-598. doi: 10.1111/vco.12582.

20.Marlowe KW, Robat CS, Clarke DM, Taylor A, Touret M, Husbands BD, Vail DM. Primary pulmonary histiocytic sarcoma in dogs: A retrospective analysis of 37 cases (2000-2015). Vet Comp Oncol. 2018 Dec;16(4):658-663. doi: 10.1111/vco.12437.

21.McPhetridge JB, Scharf VF, Regier PJ, Toth D, Lorange M, Tremolada G, Dornbusch JA, Selmic LE, Bae S, Townsend KL, McAdoo JC, Thieman KM, Solari F, Walton RA, Romeiser J, Tuohy JL, Oblak ML. Distribution of histopathologic types of primary pulmonary neoplasia in dogs and outcome of affected dogs: 340 cases (2010-2019). J Am Vet Med Assoc. 2021 Nov 30;260(2):234-243. doi: 10.2460/javma.20.12.0698.

22.Non-Small Cell Lung Cancer, Version

3.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. J Natl Compr Canc Netw. 2022 May;20(5):497-530. doi: 10.6004/jnccn.2022.0025.
23.Polton G., Finotello R., Sabattini S. Survival analysis of dogs with advanced primary lung carcinoma treated by metronomic cyclophosphamide, piroxicam and thalidomide. Vet. Comp. Oncol. 2018 Sep;16 (3):399-408.
24.Shan KS, Rehman TU, Ivanov S, Domingo G, Raez LE. Molecular Targeting of the BRAF Proto-Oncogene/Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) Pathway across Cancers. Int J Mol Sci. 2024 Jan 3;25 (1):624. doi: 10.3390/ijms25010624.
25.Shin JH, An JH, Park SM, Lim GH, Seo KW, Youn HY. Changes in Urinary Exosomal Nuclear Matrix Protein-22 in Dogs With Urothelial Carcinoma: A Pilot Study. In Vivo. 2024 Jan-Feb;38(1):190-195. doi: 10.21873/invivo.13425.
26.Shiota Sato Y, Elbadawy M, Suzuki K, Tsunedomi R, Nagano H, Ishihara Y, Yamamoto H, Azakami D, Uchide T, Fukushima R, Tanaka R, Yoshida T, Mori T, Abugomaa A, Kaneda M, Yamawaki H, Shinohara Y, Aboubakr M, El-Asrag ME, Usui T, Sasaki K. Derivation of a new model of lung adenocarcinoma using canine lung cancer organoids for translational research in pulmonary medicine. Biomed Pharmacother. 2023 Sep; 165:115079. doi: 10.1016/j.biopha.2023.115079.
27.Sorf A, Vagiannis D, Ahmed F, Hofman J, Ceckova M. Dabrafenib inhibits ABCG2 and cytochrome P450 isoenzymes; potential implications for combination anticancer therapy. Toxicol Appl Pharmacol. 2022 Jan 1; 434:115797. doi: 10.1016/j.taap.2021.115797.
28.Takada M, Hix JML, Corner S, Schall PZ, Kiupel M, Yuzbasiyan-Gurkan V. Targeting MEK in a Translational Model of Histiocytic Sarcoma. Mol Cancer Ther. 2018 Nov;17(11):2439-2450. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-17-1273.
29.Wei BR, Hoover SB, Peer CJ, Dwyer JE, Adissu HA, Shankarappa P, Yang H, Lee M, Peat TJ, Figg WD, Simpson RM. Efficacy, Tolerability, and Pharmacokinetics of Combined Targeted MEK and Dual mTORC1/2 Inhibition in a Preclinical Model of Mucosal Melanoma. Mol Cancer Ther. 2020 Nov;19 (11):2308-2318. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-19-0858.
30.Wei BR, Peer CJ, Richardson WJ, Hewitt SM, Figg WD, Simpson RM. Pharmacokinetics and tolerability of the dual TORC1/2 inhibitor sapanisertib in combination with the MEK inhibitor trametinib in dogs. Front Vet Sci. 2022 Dec 14; 9:1056408. doi: 10.3389/fvets.2022.1056408.
31.Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology 6th Edition 6th Edition - June 5, 2019 Editors: David M. Vail, Douglas H. Thamm, Julius M. Liptak Hardback ISBN: 9780323594967 eBook ISBN: 9780323594974
32.Yamamoto M, Fujiwara N. Protein phosphatase 6 regulates trametinib sensitivity, a mitogen-activated protein kinase kinase (MEK) inhibitor, by regulating MEK1/2-ERK1/2 signaling in canine melanoma cells. J Vet Med Sci. 2023 Sep 7;85(9):977-984. doi: 10.1292/jvms.23-0274.

REFERENCES

1.Clinical recommendations – Malignant neoplasm of bronchi and lung – Ministry of Health of the Russian Federation / AOR – 2021-2022-2023 (05/31/2021) – Approved by the Ministry of Health of the Russian Federation
2.Clinical recommendations – Malignant neoplasm of bronchi and lungs – "Association of Oncologists of Russia" and "Russian Society of Clinical Oncology" (RUSSCO) – Approved at a meeting of the Scientific and Practical Council of the Ministry of Health of the Russian Federation (Protocol No. 17-4/4884 dated 12/25/2020)
3.Bychenko, D. Modern methods of diagnosis, treatment and degree of survival in primary lung neoplasia in dogs / D. Bychenko, E. D. Zinkov // High-tech research as a basis for innovative development of society : collection of articles of the International scientific and practical Conference, Kaluga, November 27, 2021. – Ufa: OMEGA SCIENCES Limited Liability Company, 2021. – pp. 280-283.

4.Mustafin, R. N. The role of mutations in the NF1 gene in sporadic carcinogenesis / R. N. Mustafin // Successes of molecular oncology. – 2021. – Vol. 8, No. 3. – pp. 25-33. – DOI 10.17650/2313-805X-2021-8-3-25-33.
5.Nazarova, A.V. The relevance of increasing the evidence-based level of clinical trials in veterinary medicine / A.V. Nazarova, T.S. Kuznetsova, B.S. Semenov, V.N. Videnin, A.Yu. Nechaev // Materials of the International scientific and practical conference "Theory and practice of veterinary pharmacy, ecology and toxicology in agriculture", dedicated to 100-the anniversary of the Department of Pharmacology and Toxicology of St. Petersburg State Medical University. - 2021. — pp. 171-173.
6.Tyulyandin, S. A. Targeted therapy: twenty years of successes and defeats / S. A. Tyulyandin // Practical oncology. – 2019. – Vol. 20, No. 4. – pp. 274-288.
7.Felanyuk, E. Y. Cardiovascular complications in patients with non-small cell lung cancer: the current state of the problem / E. Y. Felanyuk, N. G. Lozhkina, A. A. Filippov // Medico-pharmaceutical journal Pulse. – 2023. – Vol. 25, No. 1. – pp. 56-65.
8.Shchapova, M. M. Modern ideas about the treatment of lung cancer / M. M. Shchapkova, V. A. Kondrashov, M. G. Pugacheva // The role of scientific crises in the development of modern society. Modern medicine. Theory and Practice : Proceedings of the International Scientific and Practical conference, St. Petersburg, October 23-26, 2018. – St. Petersburg: Limited Liability Company "Center for Professional Management "Academy of Business", 2018. – pp. 94-95.
9.Cronise KE, Hernandez BG, Gustafson DL, Duval DL. Identifying the ErbB/MAPK Signaling Cascade as a Therapeutic Target in Canine Bladder Cancer. Mol Pharmacol. 2019 Jul;96(1):36-46.
10.Das S, Idate R, Cronise KE, Gustafson DL, Duval DL. Identifying Candidate Druggable Targets in Canine Cancer Cell Lines Using Whole-Exome Sequencing. Mol Cancer Ther. 2019 Aug;18(8):1460-1471.
11.Elbadawy M, Sato Y, Mori T, Goto Y, Hayashi K, Yamanaka M, Azakami D, Uchide T, Fukushima R, Yoshida T, Shibutani M, Kobayashi M, Shinohara Y, Abugomaa A, Kaneda M, Yamawaki H, Usui T, Sasaki K. Anti-tumor effect of trametinib in bladder cancer organoid and the underlying mechanism. Cancer Biol Ther. 2021 Jun 3;22(5-6):357-371.
12.Ellens H, Johnson M, Lawrence SK, Watson C, Chen L, Richards-Peterson LE. Prediction of the Transporter-Mediated Drug -Drug Interaction Potential of Dabrafenib and Its Major Circulating Metabolites. Drug Metab Dispos. 2017 Jun;45(6):646-656. doi: 10.1124/dmd.116.073932.
13.Ichimata Masanao Prognosis of primary pulmonary adenocarcinoma after surgical resection in small-breed dogs: 52 cases (2005-2021) May 2023 Journal of Veterinary Internal Medicine 37(4) DOI:10.1111/jvim.16739
14.Kagawa Y, Nakano Y, Kobayashi T, Asano K, Takagi S. Localized pulmonary histiocytic sarcomas in Pembroke Welsh Corgi. J Vet Med Sci. 2016 Jan;77(12):1659-61. doi: 10.1292/jvms.15-0284.
15.Kobayashi K, Takemura RD, Miyamae J, Mitsui I, Murakami K, Kutara K, Saeki K, Kanda T, Okamura Y, Sugiyama A. Phenotypic and molecular characterization of novel pulmonary adenocarcinoma cell lines established from a dog. Sci Rep. 2023 Oct 5;13 (1):16823. doi: 10.1038/s41598-023-44062-1.
16.Kobayashi M, Onozawa M, Watanabe S, Nagashima T, Tamura K, Kubo Y, Ikeda A, Ochiai K, Michishita M, Bonkobara M, Kobayashi M, Hori T, Kawakami E. Establishment of a BRAF V595E-mutant canine prostate cancer cell line and the antitumor effects of MEK inhibitors against canine prostate cancer. Vet Comp Oncol. 2023 Jun;21 (2):221-230. doi: 10.1111/vco.12879.
17.Küchler L, Posthaus C, Jäger K, Guscetti F, van der Weyden L, von Bomhard W, Schmidt JM, Farra D, Aupperle-Lellbach H, Kehl A, Rottenberg S, de Brot S. Artificial Intelligence to Predict the BRAF V595E Mutation in Canine Urinary Bladder Urothelial Carcinomas. Animals (Basel). 2023 Jul 25;13(15):2404. doi: 10.3390/ani13152404.
18.Lee BH, Neela PH, Kent MS, Zehnder AM. IQGAP1 is an oncogenic target in ca-

nine melanoma. PLoS One. 2017 Apr 26;12 (4):e0176370. doi: 10.1371/ journal.pone.0176370.
19.Lee BM, Clarke D, Watson M, Laver T. Retrospective evaluation of a modified human lung cancer stage classification in dogs with surgically excised primary pulmonary carcinomas. Vet Comp Oncol. 2020 Dec;18 (4):590-598. doi: 10.1111/vco.12582.
20.Marlowe KW, Robat CS, Clarke DM, Taylor A, Touret M, Husbands BD, Vail DM. Primary pulmonary histiocytic sarcoma in dogs: A retrospective analysis of 37 cases (2000-2015). Vet Comp Oncol. 2018 Dec;16 (4):658-663. doi: 10.1111/vco.12437.
21.McPhetridge JB, Scharf VF, Regier PJ, Toth D, Lorange M, Tremolada G, Dornbusch JA, Selmic LE, Bae S, Townsend KL, McAdoo JC, Thieman KM, Solari F, Walton RA, Romeiser J, Tuohy JL, Oblak ML. Distribution of histopathologic types of primary pulmonary neoplasia in dogs and outcome of affected dogs: 340 cases (2010-2019). J Am Vet Med Assoc. 2021 Nov 30;260(2):234-243. doi: 10.2460/javma.20.12.0698.
22.Non-Small Cell Lung Cancer, Version 3.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. J Natl Compr Canc Netw. 2022 May;20(5):497-530. doi: 10.6004/ jnccn.2022.0025.
23.Polton G., Finotello R., Sabattini S. Survival analysis of dogs with advanced primary lung carcinoma treated by metronomic cyclophosphamide, piroxicam and thalidomide. Vet. Comp. Oncol. 2018 Sep;16 (3):399-408.
24.Shan KS, Rehman TU, Ivanov S, Domingo G, Raez LE. Molecular Targeting of the BRAF Proto-Oncogene/Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) Pathway across Cancers. Int J Mol Sci. 2024 Jan 3;25 (1):624. doi: 10.3390/ijms25010624.
25.Shin JH, An JH, Park SM, Lim GH, Seo KW, Youn HY. Changes in Urinary Exosomal Nuclear Matrix Protein-22 in Dogs With Urothelial Carcinoma: A Pilot Study. In Vivo. 2024 Jan-Feb;38(1):190-195. doi: 10.21873/invivo.13425.
26.Shiota Sato Y, Elbadawy M, Suzuki K, Tsunedomi R, Nagano H, Ishihara Y, Yamamoto H, Azakami D, Uchide T, Fukushima R, Tanaka R, Yoshida T, Mori T, Abugomaa A, Kaneda M, Yamawaki H, Shinohara Y, Aboubakr M, El-Asrag ME, Usui T, Sasaki K. Derivation of a new model of lung adenocarcinoma using canine lung cancer organoids for translational research in pulmonary medicine. Biomed Pharmacother. 2023 Sep; 165:115079. doi: 10.1016/ j.biopha.2023.115079.
27.Sorf A, Vagiannis D, Ahmed F, Hofman J, Ceckova M. Dabrafenib inhibits ABCG2 and cytochrome P450 isoenzymes; potential implications for combination anticancer therapy. Toxicol Appl Pharmacol. 2022 Jan 1; 434:115797. doi: 10.1016/ j.taap.2021.115797.
28.Takada M, Hix JML, Corner S, Schall PZ, Kiupel M, Yuzbasiyan-Gurkan V. Targeting MEK in a Translational Model of Histiocytic Sarcoma. Mol Cancer Ther. 2018 Nov;17(11):2439-2450. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-17-1273.
29.Wei BR, Hoover SB, Peer CJ, Dwyer JE, Adissu HA, Shankarappa P, Yang H, Lee M, Peat TJ, Figg WD, Simpson RM. Efficacy, Tolerability, and Pharmacokinetics of Combined Targeted MEK and Dual mTORC1/2 Inhibition in a Preclinical Model of Mucosal Melanoma. Mol Cancer Ther. 2020 Nov;19 (11):2308-2318. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-19-0858.
30.Wei BR, Peer CJ, Richardson WJ, Hewitt SM, Figg WD, Simpson RM. Pharmacokinetics and tolerability of the dual TORC1/2 inhibitor sapanisertib in combination with the MEK inhibitor trametinib in dogs. Front Vet Sci. 2022 Dec 14; 9:1056408. doi: 10.3389/fvets.2022.1056408.
31.Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology 6th Edition 6th Edition - June 5, 2019 Editors: David M. Vail, Douglas H. Thamm, Julius M. Liptak Hardback ISBN: 9780323594967 eBook ISBN: 9780323594974
32.Yamamoto M, Fujiwara N. Protein phosphatase 6 regulates trametinib sensitivity, a mitogen-activated protein kinase kinase (MEK) inhibitor, by regulating MEK1/2-ERK1/2 signaling in canine melanoma cells. J Vet Med Sci. 2023 Sep 7;85(9):977-984. doi: 10.1292/jvms.23-0274.

УДК: 617.583.1-001.6-089:636.7
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.403

АКТУАЛЬНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ ОПУХОЛЕЙ ЛЕГКОГО У МЕЛКИХ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ТАРГЕНТНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ EGFR И ALK/ROS1 МУТАЦИЯХ НА ПРИМЕРЕ КЛИНИЧЕСКИХ ДАННЫХ ГУМАННОЙ И ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ

Семенов Б.С. – д-р ветеринар. наук, профессор, проф. каф. общей, частной и оперативной хирургии (ORCID: 0000-0003-0149-9360); **Назарова А.В.*** – канд. ветеринар. наук, асс. каф. общей, частной и оперативной хирургии (ORCID: 0000-0003-4726-6204); **Кузнецова Т.Ш.** – канд. биол. наук, доц. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID: 0000-0002-8981-0696); **Колодяжный П.А.** – студ. (ORCID: 0009-0009-4166-662X).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* anna.v.nazarova@mail.ru

Ключевые слова: *опухоль лёгкого, рак лёгкого, химиотерапия, таргетная терапия, мутации EGFR, транслокации ALK и ROS1, ингибиторы EGFR/ALK/ROS1/MET, собаки, кошки.*

Key words: *lung neoplasia, lung cancer, chemotherapy, targeted therapy, EGFR mutation; ALK and ROS1 translocation; inhibitors of EGFR/ALK/ROS1/MET, dogs, cats.*

Поступила: 19.01.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

В период с 2020 по 2023 год проведено ретроспективное исследование историй болезней животных с опухолями в легких. В исследование включены 43 животных (15 собак и 28 кошек). Новообразования выявлялись с помощью методов инструментальной диагностики и морфологических исследований. Злокачественные опухоли легкого имеют различную гистологическую структуру, различаются по клиническому течению и результатам лечения. Хирургическое вмешательство является методом выбора для собак и кошек с первичными опухолями легких. У человека хирургический метод является одним из основных методов лечения рака легкого (РЛ). Поскольку в 70% случаев РЛ развивается без клинических признаков, большинство случаев опухолей трахеи, бронхов и легкого выявляются на IV стадии не только у животных, но и у человека, что делает невозможном излечивающее хирургическое вмешательство. Параллельно совершенствуются методы молекулярной биологии. Это приводит к разработке новых методов лечения, основанных на применении более эффективных противоопухолевых препаратов. Одним из современных методов лечения рака является таргетная терапия.

Молекулярно-ориентированные препараты блокируют рост раковых клеток с помощью вмешательства в механизм действия конкретных целевых (таргетных) молекул, необходимых для канцерогенеза и роста опухоли. В ветеринарной медицине в основном применяются хирургический и химиотерапевтический методы лечения, при этом последний не показывает достаточной эффективности. При этом в гуманной медицине для лечения рака легкого широко применяется таргетная терапия, действие которой отличается большей точностью и эффективностью. В доступной литературе не так много информации о применении таргетной терапии у животных и практически нет исследований по лечению неоперабельного РЛ у кошек, что делает актуальным проведение клинических исследований по применению таргетных препаратов у мелких домашних животных.

ИСПОЛЬЗУЕМАЯ ТЕРМИНОЛОГИЯ / TERMINOLOGY

EGFR (epidermal growth factor receptor) — рецептор эпидермального фактора роста (ЭФР).

Ингибиторы тирозинкиназ (ИТК) — препараты, блокирующие внутриклеточную передачу сигналов, осуществляемую путём фосфорилирования рецепторных тирозинкиназ.

Протоонкоген ALK (от Anaplastic Lymphoma Kinase) — кодирует киназу анапластической лимфомы (рецепторную тирозинкиназу ALK).

Протоонкоген MET — кодирует тирозин-протеинкиназу *c-Met*, (рецептор фактора роста гепатоцитов).

Протоонкоген ROS1 (c-ros онкоген 1) — кодирует рецепторную тирозинкиназу ROS1, которая в нормальной легочной ткани экспрессируется слабо.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Опухоли эпителиального происхождения, развивающиеся из покровного эпителия слизистой оболочки бронхов, бронхиальных слизистых желез бронхиол и легочных альвеол, принято объединять в группу «рак легкого» (РЛ). Злокачественные опухоли легкого могут иметь различную гистологическую структуру, различаться по клиническому течению и результатам лечения.

При анализе заболеваемости среди людей рак легкого по смертности занимает первое место в мире, с то время как у животных по результатам аутопсии рак легкого составляет менее 1% [1].

Однако в крупных городах на животных действуют те же факторы риска (например, воздействие табачного дыма и выхлопных газов), что и на людей, а с увеличением количества животных-компаньонов возрастает и заболеваемость РЛ среди них. К примеру, была выявлена корреляция антракоза (вдыхания пыли с последующим развитием фиброза легких) с мутацией EGFR при первичных опухолях лёгких собак [2].

Хирургическое вмешательство является методом выбора для собак и кошек с первичными опухолями легких. У человека хирургический метод является одним из основных методов лечения РЛ, а при карциноидных опухолях хирургический метод является основным. При этом чаще выполняют органосохраняющую радикальную операцию.

Поскольку в 70% случаев РЛ развивается без клинических признаков, большинство случаев опухолей трахеи, бронхов и легкого выявляются на IV стадии не только у животных, но и у человека, что делает невозможном излечивающее хирургическое вмешательство. Кроме того, была выявлена и доказана неэффективность применяемой в медицине человека высокодозной химиотерапии (ХТ) у животных [3].

Ранее было доступно только три метода лечения онкологических заболеваний: классическая химиотерапия, лучевая терапия и хирургические вмешательства. На сегодняшний день активно изучаются генетические изменения в раковых клетках. Пристальное внимание уделяется тому, какие именно белки способствуют бесконтрольному росту клеток, их размножению и распространению в организме. На данный момент выявлены

682 гена, которые вовлечены в процесс канцерогенеза 53 типов опухолей у человека [4].

Параллельно совершенствуются методы молекулярной биологии. Это приводит к созданию новых протоколов лечения, основанных на применении более эффективных классов противоопухолевых препаратов. Одним из современных методов лечения рака является таргетная или молекулярно-ориентированная терапия.

Молекулярно-ориентированные препараты блокируют рост раковых клеток с помощью вмешательства в механизм действия конкретных целевых (таргетных) молекул, необходимых для канцерогенеза и роста опухоли, а не просто препятствуя размножению всех быстро делящихся клеток (как, например, делает традиционная химиотерапия).

Целью нашей работы было показать распространенность рака легкого у собак и кошек и провести обзор ряда исследований гуманной и ветеринарной медицины по использованию таргетной терапии. В связи с тем, что патологический рост клеток возникает в результате мутаций молекул или мишеней, вовлеченных в механизмы регулирующие процессы деления клеток, то существенным исследованием является выявление мутаций у конкретных животных для использования таргетной терапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводилось на базе ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» и сети ветеринарных клиник ВЕГА г. Санкт-Петербурга.

В период с 2020 по 2023 год нами было проведено ретроспективное исследование историй болезней животных, у которых были диагностированы опухоли в легких и грудной полости. В исследование были включены 43 животных: 15 собак *(Canis lupus familiaris)* и 28 кошек *(Felis catus)*.

Рентгенография грудной клетки была проведена у 34 животных — у 22 кошек из 28 и 12 собак.

КТ была проведена 12 кошкам и четырём собакам, из них четырём кошкам и одной собаке были проведены и КТ, и рентген легких.

У восьми собак была диагностирована первичная опухоль легкого и у девяти собак — метастатическое поражение легких, при этом у двух собак были признаки как первичной опухоли, так и метастатического поражения.

У восьми кошек была диагностирована первичная опухоль легкого, у 13 — метастатическое поражение, при этом у трёх кошек были признаки как первичной опухоли, так и метастатического поражения.

Новообразования выявлялись с помощью методов инструментальной диагностики. Компьютерная томография выполнялась на компьютерном томографе Philips MX 16 (Китай). Внутривенное контрастирование проводилось с использованием препарата Омнипак 350 мг.

Рентгенография проводилась на ветеринарном рентгеновском аппарате Zoomed VX-400.

Ультрасонография проводилась на стационарном ультразвуковом сканере Sonoscape S20Pro (Китай) с использованием микроконвексного датчика для педиатрии/ветеринарии C611 и линейного датчика 12L.

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.

Оперативное лечение было проведено одной собаке.

Химиотерапия была проведена восьми животным — четырём собакам и четырём кошкам. Из них конвенционная химиотерапия (ХТ) проводилась четырём животным: карбоплатин 280 и 300 мг/м^2 внутривенно каждый 21 день (две собаки), доксорубицин 1 мг/кг внутривенно каж-

дый 21 день (одна кошка), доцетаксел 20 мг/м^2 и бевацизумаб 5 мг/кг внутривенно каждый 21 день (одна кошка). Метрономная химиотерапия циклофосфамидом 15 мг/м^2 внутрь ежедневно (одна собака и одна кошка). Одной собаке и одной кошке проводилась молекулярно-ориентированная (таргетная) терапия препаратами сорафениб 5 мг/кг два раза в день за час до еды и траметиниб 0,025 мг/кг один раз в день.

В нашем исследовании приняли уровень значимости равным 95% *(p=0,05)*. Статистическую обработку полученных данных выполнили в программе BioStat, AnalystSoft Inc., версия 7.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В исследование были включены 15 собак и 28 кошек, у которых были диагностированы новообразования в грудной полости и легких.

Средний возраст для собак составил 12,4 лет (95% доверительный интервал (ДИ) 10,5–14,3 лет) и 11,4 лет (95% ДИ 9,8–13,1 лет) для кошек. Породной и половой предрасположенности у животных не установлено.

Проявление клинических симптомов при новообразованиях в легких зависит от локализации опухоли, её размеров, типа роста и гистологической структуры, поражения лимфатических узлов грудной полости и средостения, а также от вызванных развитием неопластического процесса воспалительных изменений в бронхах и легких. Наиболее часто наблюдаемыми симптомами являются непродуктивный кашель, гипорексия, потеря живой массы тела, одышка, снижение физической активности. В некоторых случая развиваются неотложные (острые) состояния, такие как гемо-/пио-/гидроторакс или пневмоторакс. Эти симптомы не являются патогномоничными и могут наблюдаться при легочной патологии неопухолевой природы или общесоматических патологиях, не затрагивающих легкие.

Основными методами инструментальной диагностики являются рентгенография и компьютерная томография (КТ) грудной полости.

В нашем исследовании рентгенография грудной клетки была проведена у 79,1% животных (34 животных из 43) — 78,6% (22 из 28) кошек и 80,0% (12 из 15) собак.

КТ была проведена 42,9% (12 из 28) кошек и 26,7% (четырём из 15) собак, из них четырём кошкам и одной собаке были проведены и КТ, и рентген легких, при этом на КТ были подтверждены рентгенологические находки.

Бронхоскопия и бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ) одной кошке с опухолевым поражением легкого и цитологическое исследование выявило развитие *бронхоальвеолярной карциномы*. Редкое применение данного метода исследования связано с тем, что его диагностическая эффективность невысока, за исключением случаев центрального РЛ с внутрибронхиальным ростом.

При наличии выпота в грудной полости (более характерно для кошек) возможно проведение цитологического исследование выпота. Однако его диагностическая ценность остаётся спорной. В нашем исследовании цитологическое исследование выпота из грудной полости нами было проведено у пяти кошек: у одной кошки цитологическая картина была характерна для развития модифицированного транссудата, опухолевые клетки выявлены не были и у четырех кошек с метастатическим поражением легких, вызванным первичными опухолями другой локализации. При метастатическом поражении цитологическая картина была характерна для развития метастатического выпота, в том числе у кошки с ранее диагностированной карциномой молочной железы — цитологическая картина более характерна для развития метастаза аденокарциномы молочной железы.

Для проведения морфологического исследования технически доступна тонкоигольная и кор-биопсия под контролем КТ или УЗИ, а также взятие материала при торакоскопии или диагностической торакотомии. Однако поскольку эти методы связаны с риском осложнений (до 31%

по литературным данным), владельцы редко дают согласие на их проведение.

В нашем исследовании у 53,3% (восьми из 15) собак была диагностирована первичная опухоль легкого и у 60,0% (девяти из 15) собак — метастатическое поражение легких, при этом у 13,3% (двух из 15) собак были признаки как первичной опухоли, так и метастатического поражения.

У 60,7% (17 из 28) кошек была диагностирована первичная опухоль легкого, у 46,4% (13 из 28) — метастатическое поражение, при этом у 10,7% (трёх из 28) кошек были признаки как первичной опухоли, так и метастатического поражения.

Наиболее распространёнными гистологическими типами первичного РЛ у собак являются карциномы (87,1%), гораздо реже диагностируются саркомы (7,6%) и аденомы (3,2%). У кошек также с наибольшей частотой диагностируются карциномы (до 71%). Мелкоклеточный РЛ, который у человека диагностируется в 15% случаев, у животных выявляется редко.

Для РЛ характерны такие паранеопластические синдромы, как гипертрофическая остеопатия, гиперкальциемия, паранеопластический лейкоцитоз (более характерен для собак).

Для кошек с РЛ характерен лёгочно-пальцевый синдром — метастазирование рака в области фаланг пальцев, что проявляется характерными изменениями пальцев и хромотой без легочных симптомов. В нашем исследовании легочно-пальцевый синдром был диагностирован у одной кошки.

При выборе метода лечения у конкретного пациента клиницист ориентируется не только на стадию болезни, но и на состояние пациента. У человека во многих клинических рекомендациях есть ссылка на шкалу оценки тяжести состояния пациента по версии ECOG (оригинальное название: The Eastern Cooperative Oncology Group/World Health. Organization Performance Status (ECOG/WHO PS)). И если шкала стадирования РЛ для собак разработана — Canine lung carcinoma stage classification (CLCSC) [5] (для кошек такой шкалы нет), то общепринятых шкал для оценки тяжести состояния пациента на данный момент нет.

Хирургическое вмешательство является методом выбора для собак и кошек с первичными опухолями легких. У человека хирургический метод является одним из основных методов лечения РЛ, а при карциноидных опухолях хирургический метод является основным. При этом чаще выполняют органосохраняющую радикальную операцию.

Поскольку в 70% случаев РЛ развивается без клинических признаков, большинство случаев опухолей трахеи, бронхов и легкого выявляются на IV стадии не только у животных, но и у человека, что делает невозможным излечивающее хирургическое вмешательство.

Из 43 животных, включённых в исследование, хирургическая операция была проведена только одной собаке (что составило только 2,4% от 43 включённых в исследование животных) с карциномой легкого I стадии по CLCSC. Остальным животным хирургическое лечение либо не проводилось (чаще всего из-за отказа владельцев), либо было не показано из-за продвинутой стадии болезни.

Восьми из 43 животных (18,6%) была проведена ХТ. Из них четырём животным (двум собакам и двум кошкам) проводилась высокодозная внутривенная ХТ, двум животным (одной собаке и одной кошке) — метрономная химиотерапия, и двум животным (одной собаке и одной кошке) — молекулярно-ориентированная (таргетная) терапия.

Двум собакам с диагностированными первичными опухолями легкого вводили карбоплатин в дозе 280 и 300 мг/м^2 внутривенно каждые 21 день четыре курса и шесть курсов соответственно. На фоне ХТ было отмечено прогрессирование опухоли.

Одной кошке с развитием метастатического поражения легких (IV стадия опухоли молочных желёз) вводили доксорубицин 1 мг/кг внутривенно каждые три недели. Вследствие прогрессирования

процесса кошка была эвтаназирована по решению владельцев.

Одной кошке с развитием метастатического поражения легких (IV стадия опухоли молочных желёз) проводили терапию доцетакселом 20 мг/м^2 и бевацизумабом 5 мг/кг внутривенно каждый 21 день. На момент написания статьи развитие метастатического поражения стабилизировано, состояние кошки удовлетворительное.

Одной собаке с метастатическим поражение легких при опухоли молочных желёз проводилась метрономная ХТ циклофосфамидом 15 мг/м^2 внутрь ежедневно. На момент написания статьи развитие метастатического поражения стабилизировано, состояние собаки удовлетворительное.

Одной кошке с первичной опухолью легкого проводилась метрономная ХТ циклофосфамидом 15 мг/м^2 внутрь ежедневно. На фоне ХТ было отмечено прогрессирование опухоли.

Одной собаке с метастазированием переходно-клеточной карциномой мочевого пузыря в легкие проводится терапия сорафенибом в дозе 5 мг/кг два раза в день. На момент написания статьи развитие первичной опухоли и метастатического поражения стабилизировано, состояние собаки удовлетворительное.

Кошке с легочно-пальцевым синдромом терапия сорафенибом 5 мг/кг два раза в день и траметинибом 0,025 мг/кг один раз в день проводилась только семь дней, затем кошка была эвтаназирована по решению владельцев, поэтому судить об эффективности применения терапии в данном случае мы не можем вследствие небольшого срока применения.

Таким образом, вопрос эффективного нехирургического лечения первичных опухолей легкого у животных на настоящий момент остаётся открытым.

Имеются работы, в которых продемонстрирована возможность применения низкомолекулярных таргетных препаратов, мишенями которых являются белки EGFR+ и ALK/ROS1+ сигнальных путей, как у человека, так и у животных. Одной их важных молекул, задействованных во многих сигнальных путях, является EGFR.

EGFR (epidermal growth factor receptor) — это трансмембранный рецептор, связывающий внеклеточные лиганды из группы эпидермальных факторов роста, относится к подсемейству тирозинкиназных рецепторов. При наличии мутаций в рецепторе эпидермального фактора роста происходит активация сигнального пути EGFR, что вызывает процессы злокачественной трансформации в клетке. Гиперэкспрессия EGFR опухолевыми клетками, как правило, ассоциируется с поздними стадиями неопластического процесса и метастатическим фенотипом заболевания, поэтому определение мутации гена EGFR важно не только для выбора протокола лечения, но и для определения прогноза болезни для конкретного пациента.

В исследовании K. Kobayashi (2023), проведённом на клеточных линиях первичной карциномы легкого у собак, авторы оценили экспрессию и статус фосфорилирования нескольких ассоциированных с опухолью белков в клеточных линиях с помощью иммуноблоттинга. Относительно высокую экспрессию EGFR и HER2 наблюдали во всех клеточных линиях [6]. Результаты этого исследования показывают перспективность применения ингибиторов тирозинкиназы рецепторов эпидермального фактора роста для лечения РЛ у собак.

Основными препаратами, рекомендуемыми у человека при выявлении активирующих мутаций в гене EGFR, являются *гефитиниб*, *эрлотиниб*, *афатиниб* и *осимертиниб*. Все препараты доступны в лекарственной форме для перорального введения и применяются до появления клинических признаков прогрессирования болезни или неприемлемой токсичности.

Для применения у собак исследован препарат *гефитиниб* (селективный ингибитор тирозинкиназы рецепторов эпидермального фактора роста I поколения), его рекомендуется применять в дозе 5 мг/кг один раз в сутки натощак, поскольку

на его всасывание и метаболизм оказывают влияние кишечные бактерии [7].

Эрлотиниб (коммерчески доступный препарат Тарцева) — препарат, используемый для лечения некоторых видов немелкоклеточного рака легких и рака поджелудочной железы. Данный препарат назначается в том случае, если известна мутация EGFR. Эрлотиниб представляет собой обратимый ингибитор тирозинкиназы, взаимодействующий с EGFR как дикого типа, так и с мутировавшим EGFR. Ингибиторы рецепторной тирозинкиназы, в том числе эрлотиниб, предотвращают фосфорилирование своего субстрата на уровне клеточного сигнального пути. Стоит обратить внимание, что опухолевые клетки могут вырабатывать устойчивость к ингибиторам тирозинкиназы за счет появления вторичной мутации в EGFR, такой как T790M, которая возникает в экзоне 20 EGFR. Такая ситуация требует дополнения или изменения схемы лечения, например, включение препарата Осимертиниб. Данный препарат обладает необратимой аффинностью к остатку цистеина-797 в сайте связывания АТФ в EGFR при наличии мутации T790M [8].

При исследовании метаболизма и экскреции эрлотиниба метаболиты, обнаруженные у людей, были аналогичны тем, которые были обнаружены у крыс и собак, что подтвердило отсутствие видовой специфичности препарата и позволило применять его при лечении животных. Сообщалось об интерстициальных заболеваниях легких у больных, получавших ингибиторы тирозинкиназ (ИТК) рецепторов эпидермального фактора роста. В эксперименте, проведённом K. Adachi [9] на крысах, исследовали эффекты кратковременного (7- и 21-дневного) введения эрлотиниба в субтоксической дозе (10 мг/кг/сут перорально) и влияние длительного (до 63 дней) введения токсических доз (до 20 мг/кг/сут перорально) при блеомицин-индуцированном повреждении легких легкой и средней степени тяжести. Длительное введение токсических доз сопровождалось снижением прироста массы тела и тяжелыми поражениями кожи, однако введение эрлотиниба крысам, получавшим блеомицин, не выявило обострения повреждений легких по таким показателям, как макроскопические данные, масса легких, гистопатологические показатели (плотность поражения легких и оценка фиброза легких) и уровень гидроксипролина в легких (HyP). У крыс контрольной группы, получавших только эрлотиниб, поражений легких отмечено не было. Эти результаты свидетельствуют о том, что эрлотиниб не оказывает какого-либо усугубляющего воздействия на повреждения легких у крыс, вызванные блеомицином.

В 2023 году был опубликован клинический случай эрлотиниб-индуцированных билатеральных язв роговицы у собаки, получавшей в течение двух месяцев эрлотиниб (Тарцева®) для лечения рака легких. На обоих глазах были диагностированы изъязвления роговицы с истончением стромы, которые были рефрактерными после двух недель лечения местными антибиотиками и каплями с искусственной слезой. Было рекомендовано срочное прекращение приема эрлотиниба, и через две недели после прекращения приема дефекты роговицы исчезли; однако истончение роговицы сохранялось шесть месяцев [10].

Афатиниб (селективный необратимый ингибитор протеинтирозинкиназных рецепторов семейства ErbB) у животных изучался в сравнительном исследовании на клеточных линиях опухолей молочных желёз собак. Было исследовано влияние ингибитора рецептора эпидермального фактора роста (EGFR)/тирозинкиназы HER2 на активность и миграцию белков Wnt-сигнального пути и проведено сравнение с другими ингибиторами тирозинкиназы (ИТК) родственных сигнальных путей. В этом исследовании афатиниб продемонстрировал повышенную активность [11].

Осимертиниб является необратимым ингибитором тирозинкиназы рецептора ЭФР (EGFR) III поколения, эффективным при наличии сенсибилизирующих мута-

ций гена EGFR и мутации T790M, связанной с развитием резистентности к ингибиторам тирозинкиназы. В сравнительном исследовании метаболизма осимертиниба у крыс, собак и мышей семь метаболитов, обнаруженные в гепатоцитах человека, также выявлялись в гепатоцитах крыс или собак на аналогичных или более высоких уровнях. Также осимертиниб легко распределяется как по здоровому мозгу, так и по опухолевой ткани. В доклинических сравнительных исследованиях при применении в следующих дозах: осимертиниб 25 мг/кг, гефитиниб 6,25 мг/кг, роцилетиниб 100 мг/кг, афатиниб в дозе 7,5 мг/кг, осимертиниб продемонстрировал лучшее проникновение через гематоэнцефалический барьер мыши, чем другие протестированные ИТК [12]. Эти исследования показывают, что осимертиниб может использоваться для лечения метастазов в мозг у пациентов с мутацией EGFR.

Любая таргетная терапия начинается с выявления активирующих мутаций в генах. Однако в клинических рекомендациях для лечения РЛ у человека указывается, что в отдельных случаях при невозможности определения активирующих мутаций гена EGFR в опухоли или в плазме как при аденокарциноме, так и при плоскоклеточном РЛ может быть рекомендована молекулярно-направленная терапия эрлотинибом или афатинибом.

Для определения мутации гена EGFR в тканях опухолей проводят молекулярно -генетическое исследование (ПЦР) биоптата опухолевой ткани.

Более редкой, но всё же встречающейся «генетической поломкой» при РЛ являются транслокации (обмен участка гена с другими генами) генов ALK/ROS1+. В норме рецепторные тирозинкиназы ALK и ROS1 представлены только в нервной ткани во время эмбриогенеза.

При возникновении транслокаций в вышеописанных генах, происходит образование дефектного рецептора ALK и ROS1 на клетках, что приводит к их бесконтрольному росту и делению с последующей трансформацией в опухолевые клетки.

При немелкоклеточном раке легкого (НМРЛ) хромосомные перестройки с участием гена ALK, расположенного на хромосоме 2, обнаруживаются примерно в 5% случаев. Это приводит к формированию изменённого рецептора по поверхности клетки, который постоянно и некорректно транслирует команду на рост и деление клетки, что приводит к приобретению клеткой онкогенных свойств. У человека опухоли с транслокацией ALK имеют характерный паттерн: отсутствие курения в анамнезе, молодой возраст, гистологически представлены ацинарной аденокарциномой. Всем пациентам с местно-распространенным и метастатическим НМРЛ, отрицательным на EGFR мутации, рекомендовано определение наличия транслокации ALK для возможности назначения таргетной терапии.

Распространенность транслокации ROS1 при НМРЛ у человека составляет примерно 1–2 %. Как и в случае с ALK, опухоли, несущие транслокацию ROS1, обнаруживаются чаще у женщин, никогда не куривших, имеют гистологическую картину аденокарциномы. Утрата 14-го экзона гена MET встречается в 3% случаев аденокарциномы лёгкого. У человека для молекулярно-направленной терапии при ALK/ROS1 транслокациях рекомендованы препараты *кризотиниб*, *церитиниб* и *алектиниб*.

Кризотиниб — это ингибитор ALK I поколения, дополнительно может воздействует на тирозинкиназы MET и ROS1. Препарат высоко специфичен к указанным рецепторам, поэтому его применение может быть эффективно только при наличии транслокации в гене ALK, ROS1 или мутации в гене MET (или амплификации гена MET). Соответственно, без проведения молекулярно-генетических исследований назначение кризотиниба не имеет смысла.

Кроме того, в исследованиях на клеточных линиях остеосаркомы собак кризотиниб снижал миграцию и продукцию MMP-9, но не ингибировал инвазию или жизнеспособность клеток остеосаркомы,

в отличие от *дазатиниба*, который при применении в дозе 0,75 мг/кг подавлял жизнеспособность клеток, инвазию и миграцию [13].

Доклинический профиль и эффективность *in vivo* на моделях ксенотрансплантатов крыс ингибитора ALK и ROS-1 II поколения — *церитиниба*, были исследованы во время доклинических испытаний. Доклинические исследования ингибитора ALK III поколения — алектиниба, показали, что он может накапливаться в клетках почек собак [14]. Однако рекомендации по клиническому применению обоих препаратов у животных в доступной литературе на момент написания статьи отсутствуют.

ABN401 (ещё не имеет коммерческого названия, так как находится в стадии разработки и исследований) является недавно синтезированным ингибитором c-MET, который потенциально не разрушается альдегидоксидазой (АО) в цитозоле печени. Биодоступность составляет приблизительно 30% у собак, и он высокоэффективен на модели ксенотрансплантата, полученного от пациента с НМРЛ, достигая примерно 90% ингибирования роста опухоли в комбинации с эрлотинибом [15].

Как мы видим, таргетные препараты, мишенями которых являются рецепторы EGF (за исключением эрлотиниба), ALK, ROS1 и MET, являются более чувствительными к выявлению мутаций и их применение требует обязательного проведения молекулярно-генетических исследований (МГИ) перед назначением.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Опухолевые поражения легких диагностируются у животных старшего возраста — средний возраст составил 12,4 лет и 11,4 лет для собак и кошек соответственно.

Наиболее часто применяемым инструментальным методом диагностики опухолей легкого является рентгенография (проведена у 78,6% кошек и 80,0% собак), КТ применяется реже (проведена 42,9% кошек и 26,7% собак).

У большинства собак (60,0%) диагностировались метастатические поражения лёгких, а у большинства кошек — первичные поражения легкого (60,7%).

В ветеринарной медицине в основном применяются хирургический и химиотерапевтический методы лечения, однако из -за поздней диагностики только 2,4% животных была проведена операция. Химиотерапия первичных опухолей легкого в нашем исследовании не показала эффективности, сравнимой с результатами у человека.

В гуманной медицине для лечения рака легкого применяется таргетная терапия, действие которой отличается большей точностью и эффективностью. Для принятия выбора протокола лечения РЛ у животных будет полезна разработка, валидация и внедрение в клиническую практику ветеринарной шкалы тяжести состояния пациента и проведение генетических тестов с целью выявления наличия мутаций, ассоциированных с процессами канцерогенеза.

LUNG CANCER IN COMPANION ANIMALS AND THE POSSIBILITY OF USING TARGETED THERAPY IN THE PRESENCE OF EGFR AND ALK/ROS1 MUTATIONS

Semenov B.S. – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Professor of the Department of Surgery (ORCID: 0000-0003-0149-9360); **Nazarova A.V. –** Candidate of Veterinary Sciences, Assistant of the Department of Surgery (ORCID: 0000-0003-4726-6204); **Kuznetsova T.Sh. –** Candidate of Biological Sciences, docent of the Department of Genetic and Reproductive Biotechnologies (ORCID: 0000-0002-8981-0696); **Kolodyazhny P.A.** – student (ORCID: 0009-0009-4166-662X)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* anna.v.nazarova@mail.ru

ABSTRACT

In the period from 2020 to 2023 was conducted a retrospective study of animal disease histories with lung neoplasia. 43 animals (15 dogs and 28 cats) were included in

the study. Neoplasms were identified by instrumental and histopathological methods. Malignant lung tumors have different histological structure, differ in clinical course and treatment results. Surgery is the method of choice for dogs and cats with primary lung tumors. In humans, the surgical method is one of the main methods of treating lung cancer (LC). Since in 70% of cases LC develops without clinical signs, most cases of the trachea, bronchi and lung tumors are detected at IV stage not only in animals, but also in humans, which makes radical surgery impossible. The development of molecular biology methods leads to the development of new treatment methods based on the use of more effective antitumor drugs. One of the innovative methods of cancer treatment is targeted therapy. Molecular-oriented drugs block the growth of cancer cells by interfering with the mechanism of action of specific target molecules necessary for carcinogenesis and tumor growth. In veterinary medicine, surgical and chemotherapeutic methods of treatment are mainly used, while the latter does not show sufficient effectiveness. At the same time, in humane medicine for the treatment of lung cancer widely use targeted therapy, the effect of which is more accurate and effective. There is not much information in the available literature on the use of targeted therapy in animals and there are practically no studies on the treatment of inoperable LC in cats, which makes it relevant to conduct clinical studies on the use of targeted drugs in companion animals.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Быченко, Д. Современные методы диагностики, лечения и степень выживаемости при первичной неоплазии легких у собак / Д. Быченко, Е. Д. Зиньков // Наукоёмкие исследования как основа инновационного развития общества: сборник статей Международной научно-практической конференции, Калуга, 27 ноября 2021 года. – Уфа: Общество с ограниченной ответственностью "ОМЕГА САЙНС", 2021. – С. 280-283.

2.Реутова, Е. В., Лактионов К. П., Юдин Д. И., Ардзинба М. С. Рациональный подход к терапии EGFR-позитивного рака легкого // МС. 2019. №19. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/ratsionalnyy-podhod-k-terapii-egfr-pozitivnogo-raka-legkogo (дата обращения: 23.02.2024).

3.McPhetridge JB, Scharf VF, Regier PJ, Toth D, Lorange M, Tremolada G, Dornbusch JA, Selmic LE, Bae S, Townsend KL, McAdoo JC, Thieman KM, Solari F, Walton RA, Romeiser J, Tuohy JL, Oblak ML. Distribution of histopathologic types of primary pulmonary neoplasia in dogs and outcome of affected dogs: 340 cases (2010-2019). J Am Vet Med Assoc. 2021 Nov 30;260(2):234-243. doi: 10.2460/javma.20.12.0698.

4.Семенкин, А. А., Сапроненко В. С., Логинова Е. Н., Надей Е. В. Таргетная терапия в онкологии // ЭиКГ. 2022. №9 (205). URL: https://cyberleninka.ru/article/n/targetnaya-terapiya-v-onkologii (дата обращения: 23.02.2024).

5.Ichimata Masanao Prognosis of primary pulmonary adenocarcinoma after surgical resection in small-breed dogs: 52 cases (2005-2021) May 2023 Journal of Veterinary Internal Medicine 37(4)

6.Kobayashi K, Takemura RD, Miyamae J, Mitsui I, Murakami K, Kutara K, Saeki K, Kanda T, Okamura Y, Sugiyama A. Phenotypic and molecular characterization of novel pulmonary adenocarcinoma cell lines established from a dog. Sci Rep. 2023 Oct 5;13 (1):16823.

7.Dai T, Jiang W, Wang M, Guo Z, Dai R. Influence of two-period cross-over design on the bioequivalence study of gefitinib tablets in beagle dogs. Eur J Pharm Sci. 2021 Oct 1;165:105933. doi: 10.1016/j.ejps.2021.105933.

8.Carter J, Tadi P. Erlotinib. 2022 Dec 21. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan–. PMID: 32119371.

9.Adachi K, Mizoguchi K, Kawarada S, Miyoshi A, Suzuki M, Chiba S, Deki T. Effects of erlotinib on lung injury induced by intratracheal administration of bleomycin (BLM) in rats. J Toxicol Sci. 2010 Aug;35 (4):503-14. doi: 10.2131/jts.35.503.

10.Jung S. Presumed erlotinib-induced bilateral corneal ulcers in a dog with lung tumor.

Vet Ophthalmol. 2023 Jan;26(1):78-80. doi: 10.1111/vop.13034.
11.Timmermans-Sprang EPM, Mestemaker HM, Steenlage RR, Mol JA. Dasatinib inhibition of cSRC prevents the migration and metastasis of canine mammary cancer cells with enhanced Wnt and HER signalling. Vet Comp Oncol. 2019 Sep;17(3):413-426. doi: 10.1111/vco.12490.
12.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.
13.Marley K, Gullaba J, Seguin B, Gelberg HB, Helfand SC. Dasatinib Modulates Invasive and Migratory Properties of Canine Osteosarcoma and has Therapeutic Potential in Affected Dogs. Transl Oncol. 2015 Aug;8 (4):231-8. doi: 10.1016/ j.tranon.2015.03.006.
14.Hofman J, Sorf A, Vagiannis D, Sucha S, Novotna E, Kammerer S, Küpper JH, Ceckova M, Staud F. Interactions of Alectinib with Human ATP-Binding Cassette Drug Efflux Transporters and Cytochrome P450 Biotransformation Enzymes: Effect on Pharmacokinetic Multidrug Resistance. Drug Metab Dispos. 2019 Jul;47(7):699-709. doi: 10.1124/dmd.119.086975.
15.Kim NA, Hong S, Kim KH, Choi DH, Kim JS, Park KE, Choi JY, Shin YK, Jeong SH. New Preclinical Development of a c-Met Inhibitor and Its Combined Anti-Tumor Effect in c-Met-Amplified NSCLC. Pharmaceutics. 2020 Feb 3;12(2):121.

REFERENCES

1.Bychenko, D. Modern methods of diagnosis, treatment and degree of survival in primary lung neoplasia in dogs / D. Bychenko, E. D. Zinkov // High-tech research as a basis for innovative development of society: collection of articles of the International scientific and practical Conference, Kaluga, November 27, 2021. – Ufa: OMEGA SCIENCES Limited Liability Company, 2021. – pp. 280-283.
2.Reutova, E. V., Laktionov K. P., Yudin D. I., Ardzinba M. S. Rational approach to the treatment of EGFR-positive lung cancer // MC. 2019, 19. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/ratsionalnyy-podhod-k-terapii-egfr-pozitivnogo-raka-legkogo (дата обращения: 23.02.2024).
3.McPhetridge JB, Scharf VF, Regier PJ, Toth D, Lorange M, Tremolada G, Dornbusch JA, Selmic LE, Bae S, Townsend KL, McAdoo JC, Thieman KM, Solari F, Walton RA, Romeiser J, Tuohy JL, Oblak ML. Distribution of histopathologic types of primary pulmonary neoplasia in dogs and outcome of affected dogs: 340 cases (2010-2019). J Am Vet Med Assoc. 2021 Nov 30;260(2):234-243. doi: 10.2460/javma.20.12.0698.
4.Semenkin A. A., Sapronenko V. S., Loginova E. N., Nadey E. V. Targeted therapy in oncology. Experimental and Clinical Gastroenterology. 2022;205(9): 222–228. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-205-9 -222-228.
5.Ichimata Masanao Prognosis of primary pulmonary adenocarcinoma after surgical resection in small-breed dogs: 52 cases (2005-2021) May 2023 Journal of Veterinary Internal Medicine 37(4) DOI:10.1111/ jvim.16739
6.Kobayashi K, Takemura RD, Miyamae J, Mitsui I, Murakami K, Kutara K, Saeki K, Kanda T, Okamura Y, Sugiyama A. Phenotypic and molecular characterization of novel pulmonary adenocarcinoma cell lines established from a dog. Sci Rep. 2023 Oct 5;13 (1):16823.
7.Dai T, Jiang W, Wang M, Guo Z, Dai R. Influence of two-period cross-over design on the bioequivalence study of gefitinib tablets in beagle dogs. Eur J Pharm Sci. 2021 Oct 1;165:105933. doi: 10.1016/ j.ejps.2021.105933.
8.Carter J, Tadi P. Erlotinib. 2022 Dec 21. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island

(FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan–. PMID: 32119371.
9.Adachi K, Mizoguchi K, Kawarada S, Miyoshi A, Suzuki M, Chiba S, Deki T. Effects of erlotinib on lung injury induced by intratracheal administration of bleomycin (BLM) in rats. J Toxicol Sci. 2010 Aug;35 (4):503-14. doi: 10.2131/jts.35.503.
10.Jung S. Presumed erlotinib-induced bilateral corneal ulcers in a dog with lung tumor. Vet Ophthalmol. 2023 Jan;26(1):78-80. doi: 10.1111/vop.13034.
11.Timmermans-Sprang EPM, Mestemaker HM, Steenlage RR, Mol JA. Dasatinib inhibition of cSRC prevents the migration and metastasis of canine mammary cancer cells with enhanced Wnt and HER signalling. Vet Comp Oncol. 2019 Sep;17(3):413-426. doi: 10.1111/vco.12490.
12.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.
13.Marley K, Gullaba J, Seguin B, Gelberg HB, Helfand SC. Dasatinib Modulates Invasive and Migratory Properties of Canine Osteosarcoma and has Therapeutic Potential in Affected Dogs. Transl Oncol. 2015 Aug;8 (4):231-8. doi: 10.1016/ j.tranon.2015.03.006.
14.Hofman J, Sorf A, Vagiannis D, Sucha S, Novotna E, Kammerer S, Küpper JH, Ceckova M, Staud F. Interactions of Alectinib with Human ATP-Binding Cassette Drug Efflux Transporters and Cytochrome P450 Biotransformation Enzymes: Effect on Pharmacokinetic Multidrug Resistance. Drug Metab Dispos. 2019 Jul;47(7):699-709.
15.Kim NA, Hong S, Kim KH, Choi DH, Kim JS, Park KE, Choi JY, Shin YK, Jeong SH. New Preclinical Development of a c-Met Inhibitor and Its Combined Anti-Tumor Effect in c-Met-Amplified NSCLC. Pharmaceutics. 2020 Feb 3;12(2):121. doi: 10.3390/ pharmaceutics12020121.

УДК: 636.082
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.415

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА *LEP* R25C В ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ КОРОВ К КЕТОЗУ

Сабетова К.Д.* – к. вет. наук, зав. лабораторией генетики и ДНК технологий (ORCID 0000-0003-3282-4779); **Лемякин А.Д.** – селекционер-зоотехник регионального информационно-селекционного центра (ORCID 0000-0002-7737-6351); **Чаицкий А.А.** – канд. биол. наук, преподаватель кафедры частной зоотехнии, разведения и генетики (ORCID 0000-0002-5853-3809); **Щеголев П.О.** – селекционер-зоотехник регионального информационно-селекционного центра (ORCID 0000-0003-3552-8457); **Баданина Л.С.** – студ. (ORCID 0000-0002-1286-3714), **Метляев Н.Ю.** – асп. (ORCID 0009-0002-5696-1567); **Дудихин А.С.** – асп. (ORCID 0009-0008-2658-0441); **Кочуева Н.А.** – д-р биол. наук, проф. кафедры внутренних незаразных болезней, хирургии и акушерства (ORCID 0000-0002-6637-4924).

ФГБОУ ВО «Костромская государственная сельскохозяйственная академия»

* kseniyasabetova@mail.ru

Ключевые слова: *ген лептина, кетоз, коровы, метаболизм.*
Key words: *leptin gene, ketosis, cows, metabolism.*

Финансирование: *Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда №22-76-00006, https://rscf.ru/project/22-76-00006/.*

Поступила: 18.02.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

В условиях интенсификации отрасли молочного скотоводства стойкое напряжение обменных процессов в организме коровы может приводить к нарушению метаболизма и развитию кетоза. Учеными установлена генетическая предрасположенность коров к кетозу. Имеющиеся данные позволяют рассматривать ген лептина (*LEP*) в качестве одного из генов-кандидатов. Цель исследования: провести ассоциативный анализ предрасположенности к кетозу коров костромской породы разных генотипов по гену лептина. Исследования выполняли в 2022-2023 гг. на клинически здоровых полновозрастных новотельных высокопродуктивных коровах костромской породы (n=167), разводимых в племенных хозяйствах Костромской области. У животных в послеродовый период экспресс-методом определяли содержание кетоновых тел в крови и методом ПЦР-РВ – генотипы по локусу *R25C* гена *LEP*. Были сформированы группы коров в зависимости от содержания кетоновых тел в крови: 1-я – 0-1,2 ммоль/л (здоровые), 2-я – выше 1,2 ммоль/л (субклинический кетоз). Установлено, что среди подопытных коров костромской породы наибольшей частотой характеризуется генотип *CT*. Определено практически полное отсутствие различий по концентрации кетоновых тел в крови между носителями различных генотипов *LEP* из 1-й группы. В то же время, среди животных 2-й группы наибольший уровень кетоновых тел в крови наблюдался у гетерозиготных животных, тогда как носители генотипов *CC* и *TT* по данному показателю почти не различались между собой. У гетерозиготных живот-

ных, отнесенных к группе с субклиническим кетозом, наблюдался наивысший средний показатель концентрации кетонов в крови при наибольшем коэффициенте вариации (*Cv*=51,6%), что говорит о выраженном влиянии других генетических факторов. Таким образом, роль полиморфизма *LEP R25C* в предрасположенности коров к заболеванию кетозом на данной выборке животных не была установлена, что возможно дополняется влиянием других факторов, данные гипотезы необходимо проверить на большей выборке и на других породах крупного рогатого скота. Эти данные могут быть использованы для проведения таких поисковых исследований, как например, изучение комплексных генотипов генов, обуславливающих предрасположенность крупного рогатого скота к кетозу.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Молочное скотоводство является одним из важнейших жизнеобеспечивающих секторов аграрного производства, оказывающих влияние на уровень продовольственного обеспечения страны. В связи с этим, селекционная работа с крупным рогатым скотом в настоящее время преимущественно ориентируется на увеличение удоя и повышения качества молочной продукции. В результате этого на протяжении последних нескольких лет производство молока в России стало находиться на стабильных и относительно высоких отметках. Однако наблюдается сокращение численности поголовья, в том числе по причине возникновения заболеваний обмена веществ, что в свою очередь является результатом интенсивного отбора высокопродуктивных животных [1].

В условиях интенсификации отрасли молочного скотоводства все системы организма коровы находятся в состоянии максимальной физиологической нагрузки. При этом высокопродуктивные животные оказываются более восприимчивыми к различным неблагоприятным факторам, так как у них выше потребность в питательных веществах в связи с обильной лактацией и выделением большого количества белков, жиров, минеральных веществ с молоком. Стойкое напряжение обменных процессов в организме может привести к серьезным заболеваниям, одним из которых является кетоз [2].

Кетоз характеризуется как полиэтиологическое заболевание, связанное с нарушением углеводного, липидного и белкового метаболизма, сопровождается накоплением большого количества кетоновых тел в крови, моче и молоке, снижением содержания глюкозы в крови. При кетозе крупного рогатого скота сокращаются сроки использования этих животных, снижается уровень и качество молочной продуктивности, нарушается функция воспроизводства коров. Потребление молока от коров с субклиническим кетозом ведет к ухудшению здоровья новорожденных телят, развитию гастроэнтеритов и диспепсий различного характера у них. Учеными выявлено, что предрасположенность к кетозу у коров имеет генетическую обусловленность [3, 4].

H. Huang с соавторами (2019), чтобы лучше понять генетическую основу кетоза, было проведено полногеномное исследование ассоциации с использованием чипа *Illumina Bovine SNP50*. Было установлено, что несколько генов-кандидатов, включая гены *BMP4, HNF4A, APOBR, SOCS4, GCH1, ATG14, RGS6, CYP7A1* и *MAPK3*, участвуют в метаболизме инсулина или метаболизме липидов и энергетическом обмене [5].

В России данной проблематикой занималась группа ученых в рамках гранта РФФИ № 19-416 233016. Исследователями была выдвинута гипотеза, что генотип гена *LEP* может выступать как регулятор обмена веществ и пищевого поведения у коров. Так, в публикации Л.И. Якушевой и др. (2019) указано, что группу быков-производителей голштинской породы с генотипом *CC* локуса *LEP R25C* отличает более низкий средний показатель индекса «устойчивости дочерей к кетозу». Это может косвенно свидетельствовать, что генотип *CC* у крупного рогатого скота является одним из факторов риска развития кетоза [6].

В статье Н.В. Ковалюк и др. (2020) отмечено, что в разрезе комплексных генотипов полиморфизмов *R25C, Y7F, A80V* гена лептина генотип отцов *AARRYY* для дочерей и генотип *AARCYY* для коров голштинской породы обладают ценностью в плане устойчивости к кетозу [7].

В обзорной статье О.В. Соколовой с соавторами (2023) на данный момент особенно выделены исследования *S. Nayeri* (2019) на коровах голштинской породы, в которых был проведен полногеномный анализ ассоциаций, в результате чего были обнаружены гены *TNF, IFNG, LEP*, достоверно связанные с субклиническим кетозом как во время первой лактации, так и для последующих [8, 9].

ДНК-диагностика кетоза позволит в самом раннем возрасте выявить генетически предрасположенных к заболеванию коров и своевременно принять необходимые меры, что в свою очередь положительно отразится на эффективности производства молочной продукции. Имеющиеся данные позволяют рассматривать ген лептина (*LEP*) в качестве одного из генов-кандидатов, определяющих предрасположенность коров к кетозу. Однако этих сведений недостаточно для однозначного определения взаимосвязи, необходимо провести подобные исследования на примере других популяций крупного рогатого скота молочных пород, разводимых в России.

У крупного рогатого скота ген лептина локализован в 4-й хромосоме. Он контролирует проявление физиологических функций гормона лептина. Лептин вырабатывается клетками жировой ткани (адипоцитами). Экспрессия гормона реализуются на уровне гипоталамо-гипофизарной системы. Лептин участвует в регуляции пищевого поведения, контролируя потребление корма, а также в выработку и накопление энергии для лактогенеза. По данным многих авторов, лептин достоверно влияет на жировой обмен, регулирует эндокринные процессы, тесно связан с функцией репродуктивной системы. Это подтверждается ассоциациями между полиморфизмами гена лептина и интервалом отела, временем первой овуляции после отела, темпом роста животного, содержанием жировой ткани в организме и мраморностью мяса, убойным выходом [10-14]. Ген лептина определяет уровень молочной продуктивности коров, содержание белка и жира в молоке, а также связан с продуктивным долголетием, что имеет большую практическую значимость в селекционно-племенной работе [15].

Цель исследования: провести ассоциативный анализ предрасположенности к кетозу коров костромской породы разных генотипов по *LEP R25C*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования выполняли в 2022-2023 гг. в условиях лаборатории генетики и ДНК технологий ФГБОУ ВО Костромской ГСХА. Объектом исследования были полновозрастные новотельные высокопродуктивные племенные коровы костромской породы (n=167), разводимые в АО «ПЗ «Караваево» (n=107) и ООО «Минское» (n=60) Костромской области. Данные зоотехнического учета были получены с помощью ИАС «СЕЛЭКС» (ООО «РЦ «ПЛИНОР», Россия), данные ветеринарного учета – из программного обеспечения «М-комплекс» (ООО «МКС», Россия).

У клинически здоровых коров в послеродовый период (с 1-го по 10-й день после отела) экспресс-методом с использованием прибора «*TIADOC - 4235E*» *(«Taidoc Technology Corporation»*, Тайвань) и тест-полосок к нему определяли содержание кетоновых тел в цельной периферической крови. С учетом этого были сформированы группы коров: 1-я – 0-1,2 ммоль/л (здоровые), 2-я – выше 1,2 ммоль/л (субклинический кетоз).

С соблюдением правил асептики и антисептики проводили отбор крови из хвостовой вены коров в индивидуальные стерильные промаркированные вакуумные пробирки с антикоагулянтом ЭДТА К2 *(«IMPROVE»*, Германия). Из крови

сорбентным методом получали очищенную ДНК с помощью набора реактивов ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА (ООО «НПО ДНК-технология», Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Образцы ДНК были промаркированы в соответствии с шифром пробы. Условия хранения ДНК: в морозильной камере при температуре –40 °С.

Для молекулярно-генетических исследований выполнен поиск последовательностей генов с помощью биоинформационных баз данных *NCBI* и *Ensembl*. Анализ нуклеотидных последовательностей, подбор праймеров и зондов проводили с помощью компьютерной программы *Oligo 6.0*. Праймеры и зонды синтезированы ООО «НПО ДНК-технология» (Россия).

Контроль качества праймеров осуществляли методом агарозного гель-электрофореза. Условия проведения электрофореза выставляли в соответствии с инструкцией производителя камеры «*Mupid-exU*», Япония.

Полиморфизм *R25C* гена *LEP* (*rs29004488*) определяли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) с детекцией результатов гибридизационно-флуоресцентным способом.

Амплификацию образцов ДНК проводили с использованием амплификатора «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-технология», Россия) по стандартной схеме при температуре отжига праймеров 59ºС. Плавление реализовано методом примыкающих проб. Для повышения качества и специфичности *SNP*-типирования применяли модифицированные типирующие зонды, маркированные двумя разными флуорофорами, и универсальный тугоплавкий зонд с гасителем флуоресценции.

В состав смеси для постановки ПЦР (на 1 образец ДНК) входило 5 мкл образца ДНК, 20 мкл ПЦР-смеси, 0,24 мкл 25мМ дезоксинуклеозидтрифосфат (*dNTP*), 10 мкл раствора полимеразы (0,5 мкл *TAQ* полимеразы и 9,5 мкл ПЦР-буфера). В состав ПЦР-смеси входили следующие компоненты: зонд (по каналам FAM и *HEX*) по 0,1 мкл, зонд *BHQ* – 0,3 мкл, праймер *rev* – 0,6 мкл, праймер *for* – 0,1 мкл.

LEP_for5`-CgT gTg gTT TCT TCT gTT TTC Agg C-3`

LEP_rev5` CCC AgT CCC TCC CTA CCg TgT g-3`

LEP_BHQ(BHQ1)-5`-gAT gAC ACC AAA ACC CTC AT-3`-(P)

LEP_C5`-CAT CCg CAA ggT CCA g-3`-(FAM)

LEP_T5`-CAT CTg CAA ggT CCA g-3`-(HEX)

Определение генотипа проводили с помощью анализа кривых плавления.

Частоту встречаемости генотипов *LEP* 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 встречаемости аллельных вариантов гена *LEP* в группах подопытных животных вычисляли по формуле 2:

$$p = \frac{2n_{CC}+n_{CT}}{2N} \quad q = \frac{2n_{TT}+n_{CT}}{2N}, \quad (2)$$

где *p* – частота встречаемости аллеля *C*,

q – частота встречаемости аллеля *T*,

n_{CC}, n_{CT}, n_{TT}– число носителей генотипов *CC, CT* и *TT* соответственно,

N – общее число животных в группе.

Генное равновесие оценивали при помощи уравнения Харди-Вайнберга (3):

$$p^2+2pq+q^2=1, \quad (3)$$

где *p* и *q* – частоты аллелей *C* и *T* соответственно.

Оценку шанса возникновения кетоза при наличии того или иного аллельного варианта гена проводили по модели «случай-контроль» с расчетом показателя отношения шансов (ОШ) по формуле 4:

$$ОШ = \frac{A \times D}{B \times C}$$

, (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 5:

$$ДИ = e^{\ln(ОШ) \mp 1{,}96\sqrt{\frac{1}{A}+\frac{1}{B}+\frac{1}{C}+\frac{1}{D}}}$$

, (5)

Статистическая обработка результатов исследования проводилась при помощи *MS Excel 2019*. Тестирование статистической значимости разности между группами животных проводили путем расчета *t*-критерия Стьюдента, уровень статистической значимости считался достигнутым при значении $P<0,05$. Проверку гипотезы независимости распределения аллелей в подопытных группах животных осуществляли с помощью критерия «хи-квадрат» (χ^2), различие между наблюдаемым и ожидаемым частотным распределением считали статистически значимым при $P<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате генотипирования по гену лептина было выявлено следующее распределение генотипов в исследуемых выборках коров (таблица 1).

В результате анализа таблицы 1 установлено, что на предприятии АО «ПЗ «Караваево» в первой подопытной группе чаще остальных регистрировали аллельный вариант *C* гена лептина. Во второй группе наблюдалась аналогичная тенденция, где частота встречаемости носителей *CC* и *CT* генотипов была высокой и находилась на одном уровне – 0,469. Особи с генотипом *TT* встречались редко в обеих исследованных группах, в пределах 0,063-0,091.

В ООО «Минское» в первой опытной группе было зарегистрировано только одно животное гомозиготного генотипа *CC* (100%). Между тем, во второй группе частота встречаемости гетерозиготных по генотипу *CT* коров была высокой и составляла 0,508, а гомозигот *CC* и *TT* – 0,407 и 0,085 соответственно.

Итого в соответствии с выше представленными данными следует, что в обоих племпредприятиях по костромской породе чаще других встречаются коровы генотипа *CT* – 0,485, что выше по сравнению с частотой генотипов *CC* и *TT* соответственно.

Генотип *TT* при этом регистрировался реже, чем другие генотипы, в стадах обоих племпредприятий, что, вероятно, обусловлено невысокой жизнеспособностью его носителей, либо низкой концентрацией в геноме породы. Однако при этом доля носителей генотипа LEP^{TT} в стаде АО «ПЗ «Караваево» и в объединенной выборке 1-й группы заметно больше, чем во второй.

Сравнение распределения генотипов *LEP* среди подопытных животных показало, что между коровами 1 и 2 группы в АО «ПЗ «Караваево» присутствуют статистически значимые различия ($P<0,001$). Однако при сравнении частот встречаемости генотипов *LEP* между 1 и 2 группами по всем подопытным животным без учета хозяйств разница в распределении генотипов была недостоверной ($P>0,05$). Из-за наличия только одного животного в 1-й группе в ООО «Минское» сравнить частоты генотипов между подопытными группами не представляется возможным.

В силу заметного уменьшения доли генотипа *TT* в группах коров с повышенным уровнем кетоновых тел относительно групп с «нормальным» уровнем имело смысл проанализировать частоту аллельных вариантов локуса *LEP R25C* (таблица 2).

Согласно данным таблицы 2 следует, что в стаде АО «ПЗ «Караваево» в разрезе гена лептина в первой исследуемой группе чаще всего определяли аллель *C* – 0,688, тогда как аллель *T* встречался в 2,2 раза реже (0,312). Во второй группе носители аллельного варианта *C* встречались чаще на 2,1% (0,703), при более низком

Таблица 1 – Частота генотипов *LEP* в выборках коров костромской породы

Группы	*N*, голов	Генотип					
		CC		*CT*		*TT*	
		n	частота	*n*	частота	*n*	частота
АО «ПЗ «Караваево»							
всего в выборке	107	48	0,449	51	0,477	8	0,074
1	77	36	0,468	34	0,442	7	0,090
2	32	15	0,469***	15	0,469***	2	0,062***
ООО «Минское»							
всего в выборке	60	25	0,417	30	0,500	5	0,083
1	1	1	1,000	-	-	-	-
2	59	24	0,407	30	0,508	5	0,085
итого по костромской породе							
всего в выборке	167	73	0,437	81	0,485	13	0,078
1	78	37	0,474	34	0,436	7	0,090
2	91	39	0,429	45	0,494	7	0,077

*Примечание. В таблице обозначена статистическая значимость теста согласия Пирсона (критерий «хи-квадрат») между распределением генотипов LEP в 1 и 2 группах: *** – P<0,001.*

Таблица 2 – Частота аллелей *LEP* в выборках коров костромской породы

Группы	*N*, голов	Аллели	
		C	*T*
АО «ПЗ «Караваево»			
всего в выборке	107	0,687	0,313
1	77	0,688	0,312
2	32	0,703	0,297
ООО «Минское»			
всего в выборке	60	0,667	0,333
1	1	1,000	-
2	59	0,661	0,339
итого по костромской породе			
всего в выборке	167	0,680	0,320
1	78	0,692	0,308
2	91	0,676	0,324

уровне *Т* (0,297). У коров ООО «Минское» так же во второй группе частота аллеля *С* на встречалась чаще, чем аллель *Т*.

Итого по костромской породе в разрезе разных аллельных вариантов *LEP* в АО «ПЗ «Караваево» и ООО «Минское» у генотипированных коров наибольшей частотой отличался аллельный вариант *С*.

Данные по частоте встречаемости аллелей гена *LEP* у коров подопытных групп были дополнительно проанализированы с использованием модели «случай -контроль». Поскольку ни одно животное из ООО «Минское» не было отнесено к первой группе, рассчитать отношение шансов для данной популяции не удалось (таблица 3).

Анализ данных таблицы 3 показал, что отношение шансов носительниц аллелей LEP^C и LEP^T попасть в группу с субклиническим кетозом распределяется почти поровну – 0,93:1,07 среди коров АО «ПЗ «Караваево» (ДИ 0,59-1,47), как и в целом по костромской породе без учета хозяйства – 1,08:0,92 (ДИ 0,79-1,48). Таким образом, гипотеза о более низком риске возникновения кетоза у носительниц аллельного варианта LEP^T в нашем случае не нашла статистического подтверждения.

Было проведено сравнение содержания кетоновых тел в крови коров с разными генотипами по гену *LEP* (таблица 4).

Анализ данных таблицы 4 показывает практически полное отсутствие статисти-

Таблица 3 – Модель «случай-контроль» по количеству носителей аллельных вариантов гена *LEP* в первой и второй опытных группах

Аллель *LEP*	Группа		Всего
	1	2	
АО «ПЗ «Караваево»			
С	52,980	22,496	73,509
Т	24,024	9,504	33,491
Всего	77,000	32,000	107,000
ОШ	2,205	2,367	0,932 (0,589…1,473)
Итого по костромской породе			
С	53,980	61,516	113,560
Т	24,024	29,484	53,440
Всего	78,000	91,000	167,000
ОШ	2,247	2,086	1,077 (0,786…1,476)

Примечание: для отношения шансов появления носителей аллеля С оказаться в первой группе к появлению носителей аллеля Т – во второй, указан доверительный интервал (ДИ1…ДИ2).

Таблица 4 – Уровень кетоновых тел в крови коров костромской породы разных генотипов *LEP*

Генотип	АО «ПЗ «Караваево»		ООО «Минское»		в среднем по породе	
	1	2	1	2	1	2
СС	1,08±0,01	1,62±0,09	0,90	1,62±0,08	1,07±0,01	1,59±0,05
СТ	1,09±0,01	1,91±0,31	-	1,81±0,15	1,08±0,01	1,82±0,14
ТТ	1,09±0,03	1,60±0,00	-	1,64±0,05	1,09±0,03	1,63±0,04

ческие значимых различий по концентрации кетоновых тел в крови между носителями различных генотипов *LEP* из первой группы. В то же время, среди животных второй группы из АО «ПЗ «Караваево» наибольший уровень кетоновых тел в крови наблюдался у гетерозиготных животных (LEP^{CT}), тогда как носители гомозиготных генотипов *CC* и *TT* по данному показателю почти не различались между собой. Аналогичная тенденция наблюдалась во второй выборке коров из ООО «Минское», но ни в одном из хозяйств разница между гетерозиготными коровами и их гомозиготными сверстницами не была статистически значимой.

Несмотря на отсутствие статистически значимых различий между средними показателями концентрации кетоновых тел в крови коров разных генотипов *LEP*, коэффициент вариации (*Cv*) в группах коров с «нормальным» уровнем кетоновых тел колебался в пределах 5,3-7,3%, тогда как группы коров с субклиническим кетозом характеризовались высоким *Cv* – от 19,6 до 62,9%, причем наибольшая дисперсия наблюдалась среди гетерозиготных (LEP^{CT}) животных (*Cv*=45,4%… 62,9%). Высокая изменчивость концентрации кетоновых тел в крови гетерозиготных животных свидетельствует о значимом действии других факторов на данный признак.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Исследуемая популяция коров костромской породы характеризуется низким распространением генотипа *TT* полиморфизма *LEP R25C* (0,078) при соблюдении генного равновесия.

Среди коров АО «ПЗ «Караваево» с повышенным уровнем кетоновых тел в крови на 2,84% меньше носителей генотипа *TT*, чем среди животных с «нормальной» концентрацией кетонов (*P<0,001*), но статистически значимой связи между наличием аллеля *T* в генотипе и риском заболевания кетозом не обнаружено.

В группе коров с повышенным уровнем кетоновых тел в крови АО «ПЗ «Караваево» на 2,72% больше гетерозиготных животных по гену лептина, чем в группе с «нормальной» концентрацией кетонов (*P<0,001*). При этом в стадах обоих хозяйств, у гетерозиготных животных, отнесенных к группе с субклиническим кетозом, наблюдался наивысший средний показатель концентрации кетонов в крови при наибольшем коэффициенте вариации (*Cv*=51,6%), что говорит о выраженном влиянии других генетических факторов.

Таким образом, роль полиморфизма *LEP R25C* в предрасположенности коров к заболеванию кетозом на данной выборке животных не была установлена, что возможно дополняется влиянием других факторов, данные гипотезы необходимо проверить на большей выборке и на других породах крупного рогатого скота. Эти данные могут быть использованы для проведения таких поисковых исследований, как например, изучение комплексных генотипов генов, обуславливающих предрасположенность крупного рогатого скота к кетозу.

THE ROLE OF LEP R25C POLYMORPHISM IN THE SUSCEPTIBILITY OF COWS TO KETOSIS

Sabetova K.D.* – Candidate of Veterinary Sciences, Head of the Laboratory of Genetics and DNA Technologies (ORCID 0000-0003-3282-4779); **Lemyakin A.D.** – Livestock Breeder of the Regional Information and Breeding Center (ORCID 0000-0002-7737-6351); **Chaitskiy A.A.** – Candidate of Biological Sciences, Lecturer at the Department of Private Animal Science, Breeding and Genetics (ORCID 0000-0002-5853-3809); **Schiogolev P.O.** – Candidate of Agricultural Sciences, Livestock Breeder of the Regional Information and Breeding Center (ORCID 0000-0003-3552-8457); **Metlyaev N.Yu.** – Postgraduate Student of the 2st years 1.5.17. Parasitology (ORCID 0009-0002-5696-1567); **Badanina L.S.** – Master's Student of the 2st year of 36.04.02 Zootechnics (ORCID 0000-0002-1286-3714); **Dudikhin A.S.** – Postgraduate Student of the 3st years of 4.2.1. Animal Pathology, Morphology, Physiology, Pharmacolo-

gy and Toxicology (ORCID 0009-0008-2658-0441); **Kochueva N.A. –** Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Internal Non-Communicable Diseases, Surgery and Obstetrics (ORCID 0000-0002-6637-4924).

FSBEI HE Kostroma SAA

* kseniyasabetova@mail.ru

Financing: *The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 22-76-00006, https://rscf.ru/project/22-76-00006/.*

ABSTRACT

In conditions of intensification of the dairy cattle industry, persistent stress of metabolic processes in the cow's body can lead to metabolic disorders and the development of ketosis. Scientists have established the genetic susceptibility of cows to ketosis. The available data allow us to consider the leptin gene (LEP) as one of the candidate genes. The purpose of the study is to carry out an associative analysis of the predisposition to ketosis of Kostroma cows of different genotypes according to the leptin gene. The research was carried out in 2022-2023 yy on clinically healthy and highly productive fresh cows of third lactation and higher of the kostroma breed (n=167) in pedigree farms of the Kostroma region. In animals in the postpartum period, the content of ketone bodies in the blood was determined by express method and the RT-PCR genotypes were determined by the R25C locus of the LEP gene. Groups of cows were formed depending on the content of ketone bodies in the blood: 1st – 0-1.2 mmol/l (healthy), 2nd – above 1.2 mmol/l (subclinical ketosis). It was found out that among the experimental cows of the Kostroma breed, the CT genotype is characterized by the highest frequency. The almost complete absence of differences in the concentration of ketone bodies in the blood between carriers of different LEP genotypes from group 1 was determined. At the same time, among the animals of the 2nd group, the highest level of ketone bodies in the blood was observed in heterozygous animals, whereas carriers of the CC and TT genotypes did not differ from each other in this indicator. Heterozygous animals classified as subclinical ketosis had the highest average ketone concentration in the blood with the highest coefficient of variation (Cv=51.6%), which indicates a pronounced influence of other genetic factors. Thus, the role of LEP R25C polymorphism in the predisposition of cows to ketosis disease has not been established in this sample of animals, but may be supplemented by the influence of other factors, these hypotheses need to be tested in a larger sample and in other breeds of cattle. These data can be used to conduct such exploratory studies, such as the research of complex genotypes of genes that cause predisposition of cattle to ketosis.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Гусев, А.Ю. Состояние и перспективы развития отрасли молочного скотоводства / А.Ю. Гусев, К.С. Терновых, А.Л. Маркова // Теория и практика инновационных технологий в АПК: Материалы национальной научно-практической конференции, Воронеж, 19–21 апреля 2022 года. Том Часть II. – Воронеж: Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра I, 2022. – С. 439-449.

2.Иль, Е.Н. Выявление нарушений обмена веществ у высокопродуктивных коров / Е.Н. Иль, М.В. Заболотных // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2019. – № 2. – С. 83-89.

3.Симонова, Л.Н. Эффективность диагностики и разных способов лечения кетоза у коров / Л.Н. Симонова // Актуальные проблемы ветеринарии и интенсивного животноводства : Материалы национальной научно-практической конференции с международным участием, посвященной памяти доктора биологических наук, профессора Е.П. Ващекина, Заслуженного работника Высшей школы РФ, Почетного работника высшего профессионального бразования РФ, Почетного гражданина Брянской области, Брянск, 22 января 2021 года. Том Часть I. – Брянск: Брянский государственный аграрный университет, 2021. – С. 172-177.

4.Кащеев, А.А. Кетоз как зоотехническая и ветеринарная проблема высокопродуктивного молочного скотоводства / А.А. Кащеев, А.Н. Котова, Ю.А. Шевкун // Научные проблемы производства продукции животноводства и улучшения ее качества: Материалы XXIX научно-практической конференции студентов и аспирантов, Брянск, 20 –23 мая 2013 года. – Брянск: Брянская государственная сельскохозяйственная академия, 2014. – С. 81-84.

5. Huang, H. Genome-wide association study identifies energy metabolism genes for resistance to ketosis in Chinese Holstein cattle. / H. Huang, J. Cao, Q. Hanif, Y. Wang, Y. Yu, S. Zhang, Y. Zhang // Animal Genetics. – 2019. – №50(4). – P.376-380. – doi: 10.1111/age.12802. Epub 2019 Jun 10. PMID: 31179571.

6. Якушева, Л.И. Связь полиморфизмов R25C и A80V гена лептина быков- производителей с оценкой их дочерей на предрасположенность к возникновению кетоза / Л.И. Якушева, А.А. Абрамов, Н.В. Ковалюк, В.Ф. Сацук // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2019. – Т. 8. – № 3. – С. 24-27. – DOI 10.34617/y47d-6h82.

7. Ковалюк, Н.В. Связь полиморфизмов гена лептина с предрасположенностью крупного рогатого скота к кетозу / Н.В. Ковалюк, Л.И. Якушева, Е.В. Кузьминова, Е.В. Ширяева, А.А. Абрамов, М.П. Семененко // Генетика и разведение животных. – 2020. – № 3. – С. 20-26. – DOI 10.31043/2410-2733- 2020-3-20-26.

8. Соколова, О.В. Генетическая предрасположенность к кетозу у крупного рогатого скота: современное состояние / О.В. Соколова, М.В. Бытов, А.И. Белоусов, Н.А. Безбородова, В.Д. Зубарева, Н.А. Мартынов, О.С. Зайцева, И.А. Шкуратова // Генетика. – 2023. – Т. 59, № 3. – С. 294-307. – DOI 10.31857/S0016675823030116.

9. Nayeri, S. Genome-wide association analysis for β-hydroxybutyrate concentration in Milk in Holstein dairy cattle / S. Nayeri, F. Schenkel, A. Fleming, V. Kroezen, M. Sargolzaei, C. Baes, A. Cánovas, J. Squires, F. Miglior // BMC Genetics. – 2019. – V. 20. – № 58. – P. 1-17. – DOI: 10.1186/s12863-019-0761-9

10. Щеголев, П.О. Связь полиморфизма гена лептина (LEP) с хозяйственно полезными признаками крупного рогатого скота / П.О. Щеголев, К.Д. Сабетова, А.А. Чаицкий, А. Сорокина // Аграрный вестник Нечерноземья. – 2021. – № 1(1). – С. 25-32. – DOI 10.52025/2712-8679_2021_01_25.

11. Лемякин, А.Д. Воспроизводительная способность коров отечественных молочных пород с различными аллельными вариантами гена лептина / А.Д. Лемякин, А.Н. Тяжченко, К.Д. Сабетова, А.А. Чаицкий, П.О. Щеголев, А.А. Королев // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2022. – Т. 23, № 6. – С. 884-895. – DOI 10.30766/2072-9081.2022.23.6.884-895.

12. Brickell, J.S. Polymorphisms in the bovine leptin gene associated with perinatal mortality in Holstein-Friesian heifers / J.S. Brickell, G.E. Pollott, A.M. Clempson, N. Otter, D.C. Wathes // Journal of Dairy Science. – 2010. – №93. – P. 340-347.

13. Banos, G. Impact of single nucleotide polymorphisms in leptin, leptin receptor, growth hormone receptor, and diacylglycerol acyltransferase gene loci on milk production, feed, and body energy traits of UK dairy cows / G. Banos, J.A. Woolliams, B.W. Woodward, A.B. Forbes, M.P. Coffey // Journal of Dairy Science. – 2008. – №91. – P.3190-3200.

14. Гайнутдинова, Э.Р. Влияние полиморфизма гена лептина (LEP) на молочную и мясную продуктивность коров-первотелок голштинской породы / Э.Р. Гайнутдинова, Н.Ю. Сафина, Ш.К. Шакиров, М.И. Варламова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2021. – Т. 245, № 1. – С. 24-28. – DOI 10.31588/2413-4201-1883-245-1-24-28.

15. Чижова, Л.Н. Полиморфизм гена лептина у коров молочного направления продуктивности / Л.Н. Чижова, Л.В. Кононова, Г.Н. Шарко, Г.П. Ковалева // Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства. – 2017. – Т. 2. – № 10. – С. 113-117.

REFERENCES

1. Gusev, A.Yu. The state and prospects of development of the dairy cattle industry / A.Yu. Gusev, K.S. Ternov, A.L. Markova // Theory and practice of innovative technologies in agriculture: Proceedings of the National Scientific and Practical Conference, Voronezh, April 19-21, 2022. Volume Part II. – Voronezh: Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter I, 2022. – pp. 439-449. (In Russ.)
2. Il, E.N. Identification of metabolic disorders in highly productive cows / E.N. Il, M.V. Zabolotnykh // Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy. – 2019. – No. 2. – pp. 83-89. (In Russ.)
3. Simonova, L.N. The effectiveness of diagnosis and different methods of treatment of ketosis in cows / L.N. Simonova // Actual problems of veterinary medicine and intensive animal husbandry : Materials of the national scientific and practical conference with international participation dedicated to the memory of Doctor of Biological Sciences, Professor E.P. Vashchekin, Honored Worker of Higher Education of the Russian Federation, Honorary Worker of Higher Professional Education of the Russian Federation, Honorary Citizen of the Bryansk region, Bryansk, January 22, 2021. Volume Part I. – Bryansk: Bryansk State Agrarian University, 2021. – pp. 172-177. (In Russ.)
4. Kashcheev, A.A. Ketosis as a zootechnical and veterinary problem of highly productive dairy cattle breeding / A.A. Kashcheev, A.N. Kotova, Yu.A. Shevkun // Scientific problems of livestock production and improvement of its quality: Materials of the XXIX scientific and practical conference of students and postgraduates, Bryansk, May 20-23, 2013. – Bryansk: Bryansk State Agricultural Academy, 2014. – pp. 81-84. (In Russ.)
5. Huang, H. Genome-wide association study identifies energy metabolism genes for resistance to ketosis in Chinese Holstein cattle. / H. Huang, J. Cao, Q. Hanif, Y. Wang, Y. Yu, S. Zhang, Y. Zhang // Animal Genetics. – 2019. – №50(4). – p.376-380. – doi: 10.1111/age.12802. Epub 2019 Jun 10. PMID: 31179571. (In Engl.)
6. Yakusheva, L.I. The relationship of polymorphisms R25C and A80V of the leptin gene of breeding bulls with the assessment of their daughters for predisposition to ketosis / L.I. Yakusheva, A.A. Abramov, N.V. Kovalyuk, V.F. Satsuk // Collection of scientific papers of the Krasnodar Scientific Center for Animal Science and Veterinary Medicine. – 2019. – Vol. 8. – No. 3. – pp. 24-27. – DOI 10.34617/y47d-6h82. (In Russ.)
7. Kovalyuk, N.V. The connection of polymorphisms of the leptin gene with the predisposition of cattle to ketosis / N.V. Kovalyuk, L.I. Yakusheva, E.V. Kuzminova, E.V. Shiryaeva, A.A. Abramov, M.P. Semenenko // Genetics and animal breeding. - 2020. – No. 3. – pp. 20-26. – DOI 10.31043/2410-2733- 2020-3-20-26. (In Russ.)
8. Sokolova, O.V. Genetic predisposition to ketosis in cattle: current state / O.V. Sokolova, M.V. Bytov, A.I. Belousov, N.A. Bezborodova, V.D. Zubareva, N.A. Martynov, O.S. Zaitseva, I.A. Shkuratova // Genetics. - 2023. – Vol. 59, No. 3. – pp. 294-307. – DOI 10.31857/S0016675823030116. (In Russ.)
9. Nayeri, S. Genome-wide association analysis for β-hydroxybutyrate concentration in Milk in Holstein dairy cattle / S. Nayeri, F. Schenkel, A. Fleming, V. Kroezen, M. Sargolzaei, C. Baes, A. Cánovas, J. Squires, F. Miglior // BMC Genetics. – 2019. – V. 20. – № 58. – P. 1-17. – DOI: 10.1186/s12863-019-0761-9. (In Engl.)
10. Shchegolev, P.O. The connection of leptin gene polymorphism (LEP) with economically useful signs of cattle / P.O. Shchegolev, K.D. Sabetova, A.A. Chaitsky, A. Sorokina // Agrarian bulletin of the non-Chernozem region. – 2021. – № 1(1). – Pp. 25-32. – DOI 10.52025/2712-8679_2021_01_25. (In Russ.)
11. Lemyakin, A.D. Reproductive ability of cows of domestic dairy breeds with various allelic variants of the leptin gene / A.D. Lemyakin, A.N. Tyazhchenko, K.D. Sabetova, A.A. Chaitsky, P.O. Shchegolev, A.A. Korolev // Agrarian science of the Euro-North-East. – 2022. – Vol. 23, No. 6. – pp. 884-895. – DOI 10.30766/2072-9081.2022.23.6.884-895. (In Russ.)
12. Brickell, J.S. Polymorphisms in the bovine leptin gene associated with perinatal mortality

in Holstein-Friesian heifers / J.S. Brickell, G.E. Pollott, A.M. Clempson, N. Otter, D.C. Wathes // Journal of Dairy Science. – 2010. – №93. – P. 340-347. (In Engl.)
13. Banos, G. Impact of single nucleotide polymorphisms in leptin, leptin receptor, growth hormone receptor, and diacylglycerol acyltransferase gene loci on milk production, feed, and body energy traits of UK dairy cows / G. Banos, J.A. Woolliams, B.W. Woodward, A.B. Forbes, M.P. Coffey // Journal of Dairy Science. – 2008. – №91. – P.3190-3200. (In Engl.)
14. Gainutdinova, E.R. Influence of leptin gene polymorphism (LEP) on dairy and meat productivity of Holstein heifer cows / E.R. Gainutdinova, N.Y. Safina, Sh.K. Shakirov, M.I. Varlamova // Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. - 2021. – Vol. 245, No. 1. – pp. 24-28. – DOI 10.31588/2413-4201-1883-245-1-24-28. (In Russ.)
15. Chizhova, L.N. Polymorphism of the leptin gene in dairy cows / L.N. Chizhova, L.V. Kononova, G.N. Sharko, G.P. Kovaleva // Collection of scientific papers of the All-Russian Scientific Research Institute of Sheep and Goat breeding. - 2017. – vol. 2. – No. 10. – pp. 113-117. (In Russ.)

УДК: 619: 615.036.6:616-006.441
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.427

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТОКОЛОВ ХИМИОТЕРАПИИ ПРИ ЛИМФОМЕ У СОБАК

Гурина Е.Р. – асп. кафедры фармакологии и токсикологии; **Лунегов А.М. –** канд. ветеринар. наук, доц., зав. кафедрой фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0003-4480-9488).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

* a.m.lunegov@mail.ru

Ключевые слова: *лимфома, химиотерапия, этопозид, протокол лечения, собаки.*
Key words: *lymphoma, chemotherapy, etoposide, treatment protocol, dogs.*

Поступила: 07.02.2024 **Принята к публикации:25.03.2024**
Опубликована онлайн: 02.04.2024

РЕФЕРАТ

Лимфома (лимфосаркома) – злокачественное поражение лимфатической системы. В настоящий момент случаи возникновения лимфомы среди мелких домашних животных участились. В связи с этим были изучены литературные данные и разработан протокол химиотерапии для собак с лимфомой. Для исследования было отобрано 20 собак (самки и самцы) от 6-ти до 9-ти лет жизни с окончательным диагнозом лимфома, которые проходили лечение с сентября 2021 по сентябрь 2022 года. Для постановки точного диагноза был проведен сбор анамнеза жизни и анамнеза болезни животных, компьютерная томография, для оценки объема поражения и метастатического потенциала лимфомы, а также была взята биопсия, для гистологического исследования. После получения данных, подтверждающих лимфому, 10 собакам-компаньонам назначили курс химиотерапии впервые используемой в ветеринарии комбинации препаратов этопозид, доксорубицин, винкристин, преднизолон (под аббревиатурой HOPE), которые вводились 1 раз в неделю течение 19 недель. Параллельно проводили исследования на 10 собаках-компаньонах в этот же период времени, которые проходили лечение по известному протоколу CHOP, с применением препаратов циклофосфамид, доксорубицин, винкристин, преднизолон, который является стандартом лечения лимфомы. По результатам проведенного исследования, нами было выявлено, что медиана выживаемости собак с лимфомой при лечении протоколом HOPE составила 302 дня, а продолжительность жизни по протоколу CHOP - 235 дней, при этом у животных наблюдали возникновение циститов, полиурии и полидипсии, что не проявлялось при лечении протоколом HOPE.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Лимфома (лимфосаркома) – злокачественное поражение лимфатической системы. По литературным источникам средний возраст возникновения данного вида злокачественного образования составляет у собак 6-9 лет, половая предрасположенность не выявлена [1, 2]. Точная причина возникновения заболевания не известна, но считается, что факторы окружающей среды и генетическая предрасположенность играют важную роль. Существуют данные об изменениях в генетическом аппарате клеток, которые могут повлечь за собой ряд изменений, приводящих к перерождению лимфоидных клеток [3]. Инцидентность лимфомы у собак составляет 7% от всех онкологических заболеваний. Наиболее предрасположены к такой патологии боксёры, немецкие овчарки, бульмастифы, бульдоги, стаффордширские терьеры, ротвейлер, сенбернары, лабрадоры ретриверы [4].

Лимфома собак по биологической природе во многих отношениях сравнима с неходжкинской лимфомой у человека (hNHL) [5, 6, 7]. Клиническое проявление лимфомы варьирует в зависимости от типа, степени и локализации поражения. Среднестатистически у собак развивается мультицентричная лимфома высокой степени злокачественности [2]. Тем не менее, применение химиотерапии в качестве лечения и стабилизации роста опухолевых лимфоидных клеток остается основным методом воздействия на лимфому. Важно понимать, что полного выздоровления при данном заболевании не достичь, но увеличить медиану выживаемости и качество жизни возможно только с использованием цитотоксических препаратов.

Анализируя фармакокоррекцию злокачественных опухолей собак, необходимо отметить, что по исследованиям зарубежных и отечественных ученых и по опыту применения, препарат циклофосфамид оказывает негативное влияние на мочеполовую систему, а именно возникновение геморрагического цистита, недержание мочи и снижение качества жизни, что доставляет дискомфорт не только животному, но и его владельцу [6]. Преднизолон в ударной дозе 2 мг/кг, который используется в протоколе CHOP, вызывает полиурию и полидипсию, даже за короткий промежуток времени использования [9]. Также было изучено применение препарата этопозид у собак для определения допустимой дозы [8].

Нашей целью была сравнительная оценка эффективности известного протокола химиотерапии CHOP в сравнении с новой комбинацией препаратов под рабочим названием - протокол химиотерапии HOPE, оказывающим положительный эффект на пораженные лимфомой внутренние органы животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследование проводилось на базе Ветеринарного Онкологического Центра «Прайд» (г. Санкт-Петербург) и кафедры фармакологии с токсикологии Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины в период с сентября 2021 по сентябрь 2022 года.

Объектом нерандомизированного исследования были 20 собак с диагнозом лимфома без сопутствующих заболеваний весом более 15 кг. Владельцы животных осведомлены о рисках проведения химиотерапии и дали свое согласие на процедуру. Для постановки окончательного диагноза был проведен сбор анамнеза жизни и анамнеза болезни животных согласно правилам клинической диагностики, далее была проведена компьютерная томография, для оценки объема поражения, а также была взята биопсия материала - цитологическое и гистологическое исследование. Цитологическое исследование проводилось на приеме с помощью тонкоигольной аспирационной биопсии из подколенных, нижнечелюстных и паховых лимфатических узлов. Гистологическое исследование проводилось с помощью толстоигольной биопсии (трапан-биопсии/core-биопсии) из подколенных лимфатических узлов, в дальнейшем биологический материал был

направлен в ООО «Лечебно-диагностический центр международного института биологических систем имени Сергея Березина» и в Аналитическое бюро патоморфологических исследований домашних животных CYTOVET.

Для сравнительной оценки эффективности протокола химиотерапии CHOP в сравнении с протоколом химиотерапии HOPE, животные были разделены на две группы по 10 собак в каждой. Первой группе животных назначили лечение по известному протоколу CHOP включающий препараты циклофосфамид (Cyclophosphamide), доксорубицин (Hydroxydaunorubicin), винкристин (Oncovin), преднизолон (Prednisolone) [10], которые вводились один раз в неделю в течение 19 недель по следующей схеме: циклофосфамид в дозе 250 мг/м^2 - 2-я, 7-я, 12-я, 17-я неделя; доксорубицин в дозе 30 мг/м^2 - 4-я, 9-я, 14-я, 19-я неделя; винкристин в дозе 0,5-0,65 мг/м^2 - 1-я, 3-я, 6-я, 8-я, 11-я, 13-я, 16-я, 18-я неделя (в первую неделю лечения вводилась доза 0,5 мг/м^2 пробно для оценки переносимости препарата, в последующие недели 0,65 мг/м^2); преднизолон в дозе 0,5-2 мг/кг в течение первых 4-х недель, далее доза еженедельно снижалась до полной отмены препарата [10].

Второй группе, назначили курс химиотерапии, впервые используемый в ветеринарной практике, включающий цитостатические препараты доксорубицин (Hydroxydaunorubicin), винкристин (Oncovin), Преднизолон (Prednisolone) и этопозид (Etoposide) (далее протокол HOPE), которые вводились 1 раз в неделю течение 19 недель по следующей схеме: доксорубицин внутривенно 1 раз в неделю в дозе 30 мг/м^2 – 4-я, 9-я, 14-я, 19-я неделя; винкристин внутривенно 1 раз в неделю в дозе 0,5 – 0,65 мг/м^2 – 1-я, 3-я, 6 -я, 8-я, 11-я, 13-я, 16-я, 18-я неделя (в первую неделю лечения вводилась доза 0,5 мг/м^2 пробно для оценки переносимости препарата, в последующие недели 0,65 мг/м^2); преднизолон перорально ежедневно в дозе 1 мг/кг в течение 19 недель; этопозид внутривенно 1 раз в неделю в дозе 35 мг/м^2 ежедневно в течение 3-х дней – 2-я, 7-я, 12-я и 17-я неделя.

Необходимо отметить, что в медицине так же используются комбинация вышеперечисленных препаратов при лимфоме (винкристин, этопозид, преднизолон, доксорубицин), но в другом режиме дозирования и введения препаратов [11].

Период сравнительного исследования протоколов химиотерапии при лимфоме собак составил один год, с сентября 2021 по сентябрь 2022 года.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

По результатам цитологического исследования была подтверждена лимфома у всех животных. Из протоколов гистологического анализа ООО «Лечебно-диагностический центр международного института биологических систем имени Сергея Березина» и Аналитического бюро патоморфологических исследований домашних животных CYTOVET, была подтверждены следующие диагнозы: В-клеточная мелкоклеточная лимфома с индексом пролиферативной активности ki -67 - 25%; Т-клеточная мелкоклеточная лимфома с индексом активности раковых клеток ki-67 - 50%, что так же является агрессивным раковым процессом; В-клеточная крупноклеточная лимфома с индексом активности раковых клеток ki-67 - 50%.

Данные компьютерной томографии у всех исследуемых животных до лечения подтвердили поражение лимфатической системы - увеличение поверхностных и глубоких лимфатических узлов, диффузное поражение селезенки.

При сравнительном исследовании протоколов химиотерапии HOPE и CHOP с сентября 2021 по сентябрь 2022 года, была выявлена разница в продолжительности жизни животных после постановки диагноза (рис.1).

Средняя продолжительность жизни собак при использовании протокола CHOP (1-я группа) составила 235±2,1 дней, а применение протокола HOPE (2-я группа животных) увеличило среднюю продолжительность жизни до 302±2,88 дней (рис.1).

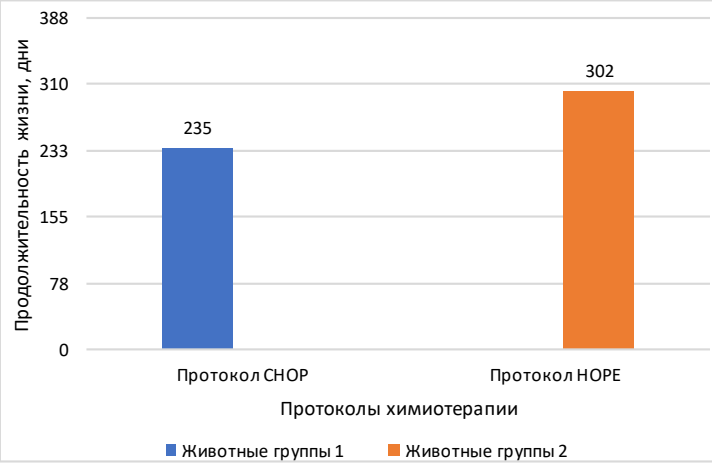


Рисунок 1 – Средняя продолжительность жизни собак при химиотерапии протоколами CHOP и HOPE.

У животных первой группы, были выявлены побочные эффекты на фоне применения препарата циклофосфамид, который значительно снижал качество жизни, приводя к циститу (у 8-ми животных из 10-ти), полиурии и полидипсии, на фоне приема препарата преднизолон в повышенной дозе (у 10-ти животных из 10-ти). Данные побочные явления также подтверждаются авторами Трофимцовым Д. В., Кузнецовой А.Л., и др. [2, 6]. В данном случае пациент направлялся к нефрологу для дальнейшего восстановления и лечения.

У второй группы исследуемых животных была отмечена аллергическая реакция на момент введения препарата этопозид (у 3-х из 10-ти), данный симптом купировался введением препарата дексаметазон в дозе 0,5 мг/кг.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

После прохождения химиотерапии по протоколу HOPE у собак отмечался полный ответ на лечение (уменьшение всех поверхностных и глубоких лимфатических узлов) и длительная ремиссия - более 3-х месяцев. У собак, проходивших лечение на протоколе CHOP так же, отмечался полный ответ на лечение, но проявлялся более быстрый рецидив развития опухоли - увеличение поверхностных лимфатических узлов через 3 недели после окончания химиотерапии.

При использовании впервые протокола химиотерапии HOPE в ветеринарной практике (состоящего из препаратов доксорубицин (Hydroxydaunorubicin), винкристин (Oncovin), преднизолон (Prednisolone), этопозид (Etoposide), в период лечения у пациентов не отмечали побочных явлений в виде геморрагического цистита, проявления полиурии и полидипсии. По результатам проведенного эксперимента в течение года, можно сделать вывод, что сравнительное исследование протоколов химиотерапии HOPE и CHOP, показало, что при лечении собак с диагнозом лимформа по протоколу HOPE, медиана выживаемости была выше, чем у животных, которые проходили лечение цитостатиками по протоколу CHOP.

COMPARATIVE STUDY OF PROTOCOLS CHEMOTHERAPY FOR LYMPHOMA IN DOGS

Gurina E.R. – Postgraduate Student, Department of Pharmacology and Toxicology; **Lunegov A.M.** – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Pharmacology and Toxicology

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* a.m.lunegov@mail.ru

ABSTRACT

Lymphoma (lymphosarcoma) is a malignant lesion of the lymphatic system. At the moment, cases of lymphoma among small pets have become more frequent. In this regard, literature data were studied and a chemotherapy protocol for dogs with lymphoma was developed. The study involved 20 companion dogs who were treated from September 2021 to September 2022. To make an accurate diagnosis, a history of life and anamnesis of animal disease was collected, computed tomography was performed to assess the extent of the lesion and the metastatic potential of lymphoma, and a biopsy was taken for histological examination. After receiving data confirming lymphoma, 10 companion dogs were prescribed a course of chemotherapy using the drugs etoposide, doxorubicin, vincristine, prednisolone (newly developed HOPE protocol), which were administered once a week for 19 weeks. In parallel, studies were carried out on 10 companion dogs during the same period of time, which were treated according to the well-known CHOP protocol, using cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisolone, which is the standard treatment for lymphoma. According to the results of the study, we found that the median survival of dogs with lymphoma treated with the HOPE protocol was 302 days, and the life expectancy under the CHOP protocol was 235 days, while the animals experienced the occurrence of cystitis, polyuria and polydipsia, which was not manifested during treatment the HOPE protocol.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Кудачева, Н. А. Клинико-морфологическая диагностика лимфом у собак / Н.А. Кудачева, Т.Ю. Беспалова // Международный научно-исследовательский журнал. - 2017. - №9 (63). - URL: https://research-journal.org/archive/9-63-2017-september/kliniko-morfologicheskaya-diagnostika-limfom-u-sobak (дата обращения: 28.03.2023). - doi: 10.23670/IRJ.2017.63.006

2. Трофимцов, Д. В. Онкология мелких домашних животных: Учебное пособие / Д. В. Трофимцов, И. Ф. Вилковыский, М. А. Аверин, А. В. Албул [и др.] // под ред. Д. В. Трофимцова, И. Ф. Вилковыского. - Москва: Издательский дом «НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА», 2017. – 574 с.

3. Ольховский, И. А. Молекулярно-генетические нарушения при острых лейкозах как основа разработки диагностических тестов (обзор литературы) / И. А. Ольховский, А. В. Комина, М. А. Столяр, А. С. Горбенко // Лабораторная служба. – 2020. - №9(4). - С. 2645.

4. Гурина, Е. Р. Лимфома собак и кошек / Е. Р. Гурина // Ветеринарная онкология. – 2022. - №1(1). – С. 4-9.

5. Tracy Gieger. Alimentary Lymphoma in Cats and Dogs, Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, Volume 41, Issue 2, 2011, Pages 419-432.

6. Химиотерапия в ветеринарной клинике / Дмитрий Трофимцов, Анна Кузнецова. – М.: Де Либри, 2021. – 310 с.

7. Dobson, J. M. Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs / J. M. Dobson, S. Samuel, H. Milstein, K. Rogers, J. L. Wood // J Small Anim. Pract. 43: - 2002. – P. 240 – 246.

8. Pierre Boye, Dose escalation study to evaluate safety, tolerability and efficacy of intravenous etoposide phosphate administration in 27 dogs with multicentric lymphoma. / Pierre Boye// 2017 May 15;12 (5):e0177486.

9. Elkholly, D. A., Side Effects to Systemic Glucocorticoid Therapy in Dogs Under Primary Veterinary Care in the UK. Frontiers in Veterinary Science, / Elkholly, D. A., Brodbelt, D. C., Church, D. B., Pelligand, L., Mwacalimba, K., Wright, A. K., & O'Neill, D. G. // 2020. 7. doi:10.3389/fvets.2020.00515

10.https://uwveterinarycare.wisc.edu/wpcontent/uploads/2019/06/k9_chop.pdf

11.https://cyberleninka.ru/article/n/targetnaya-terapiya-i-kletochnye tehnologii-v-lechenii-limfomy-hodzhkina-u-detey

REFERENCES

1. Kudacheva, N.A. Clinical and morphological diagnosis of lymphomas in dogs / N.A.

Kudacheva, T.Yu. Bespalova // International Research Journal. - 2017. - No. 9 (63). - URL: https://research-journal.org/archive/9-63-2017-september/kliniko-morfologicheskaya-diagnostika-limfom-u-sobak (date of access: 03/28/2023). - doi: 10.23670/IRJ.2017.63.006
2. Trofimtsov, D. V. Oncology of small domestic animals: Textbook / D. V. Trofimtsov, I. F. Vilkovysky, M. A. Averin, A. V. Albul [et al.] // ed. D. V. Trofimtsov, I. F. Vilkovysky. - Moscow: Publishing House "SCIENTIFIC LIBRARY", 2017. - 574 p.
3. Olkhovsky, I. A. Molecular genetic disorders in acute leukemia as a basis for the development of diagnostic tests (literature review) / I. A. Olkhovsky, A. V. Komina, M. A. Stolyar, A. S. Gorbenko // Laboratory service. - 2020. - No. 9 (4). - S. 26 45.
4. Gurina, E. R. Lymphoma of dogs and cats / E. R. Gurina // Veterinary oncology. - 2022. - No. 1 (1). - P. 4-9.
5. Tracy Gieger. Alimentary Lymphoma in Cats and Dogs, Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, Volume 41, Issue 2, 2011, Pages 419-432.
6. Chemotherapy in a veterinary clinic / Dmitry Trofimtsov, Anna Kuznetsova. - M.: De Libri, 2021. - 310 p.
7. Dobson, J. M. Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs / J. M. Dobson, S. Samuel, H. Milstein, K. Rogers, J. L. Wood // J Small Anim. Pract. 43: - 2002. - P. 240 - 246.
8. Pierre Boye, Dose escalation study to evaluate safety, tolerability and efficacy of intravenous etoposide phosphate administration in 27 dogs with multicentric lymphoma. / Pierre Boye// 2017 May 15;12 (5):e0177486.
9. Elkholly, D. A., Side Effects to Systemic Glucocorticoid Therapy in Dogs Under Primary Veterinary Care in the UK. Frontiers in Veterinary Science, / Elkholly, D. A., Brodbelt, D. C., Church, D. B., Pelligand, L., Mwacalimba, K., Wright, A. K., & O'Neill, D. G. // 2020. 7. doi:10.3389/fvets. 2020.00515
10.https://uwveterinarycare.wisc.edu/wpcontent/uploads/2019/06/k9_chop.pdf
11.https://cyberleninka.ru/article/n/targetnaya-terapiya-i-kletochnye tehnologii-v-lechenii-limfomy-hodzhkina-u-detey

Редакция журнала
«Международный вестник ветеринарии»
196084, Санкт-Петербург, Черниговская 5,
СПбГУВМ.
Телефон/факс (812) 387-11-58
Mail to: farm_vestnik@mail.ru