

**Ветеринарный фармакологический вестник
входит в перечень рецензируемых научных изданий,
в которых должны быть опубликованы основные научные результаты
диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание
ученой степени доктора наук (по состоянию на 24.03.2020 года)**

Наименование издания	ISSN	Научные специальности и соответствующие им отрасли науки, по которым присуждаются ученые степени	Дата включения издания в Перечень
Ветеринарный фармакологический вестник	2541—8203	06.02.01 — Диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных (биологические науки), 06.02.01 — Диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных (ветеринарные науки), 06.02.02 — Ветеринарная микробиология, вирусология, теринарная эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология (биологические науки), 06.02.02 — Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология (ветеринарные науки), 06.02.03 — Ветеринарная фармакология с токсикологией (биологические науки), 06.02.03 — Ветеринарная фармакология с токсикологией (ветеринарные науки), 06.02.04 — Ветеринарная хирургия (биологические науки), 06.02.04 — Ветеринарная хирургия (ветеринарные науки), 06.02.05 — Ветеринарная санитария, экология, зоогигиена и ветеринарно-санитарная экспертиза (биологические науки), 06.02.05 — Ветеринарная санитария, экология, зоогигиена и ветеринарно-санитарная экспертиза (ветеринарные науки), 06.02.06 — Ветеринарное акушерство и биотехника репродукции животных (ветеринарные науки), 06.02.06 — Ветеринарное акушерство и биотехника репродукции животных (биологические науки), 06.02.08 — Кормопроизводство, кормление сельскохозяйственных животных и технология кормов (сельскохозяйственные науки), 06.02.08 — Кормопроизводство, кормление сельскохозяйственных животных и технология кормов (биологические науки), 06.02.10 — Частная зоотехния, технология производства продуктов животноводства (сельскохозяйственные науки)	с 28.02.2020

Журнал включен в утвержденный ВАК Перечень изданий с 28.02.2020 года, выпускаемых в Российской Федерации, ISSN 2541-8203.

Журнал постатейно размещен в научной электронной библиотеке eLibrary.ru и зарегистрирован в наукометрической базе РИНЦ (Российский индекс научного цитирования) по договору № 75-01 / 2015К от 19 января 2015 г.

Журнал входит в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК РФ для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук.

Адрес редакции: 394087, г. Воронеж, ул. Ломоносова, 114б
Тел./факс +7 (473) 253-92-81
<http://www.nivipat.ru> E-mail: vetfarm.journal@yandex.ru

BULLETIN OF VETERINARY PHARMACOLOGY

*Scientific-Practical Journal of Theoretical and Experimental Studies in the Field
of Veterinary Pharmacology and Toxicology*

FOUNDER AND PUBLISHER

Federal State Budgetary Scientific Institution "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy"

Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media (Roskomnadzor) PE No. FS77—69340 dtd. April 6, 2017

Editorial opinion may not coincide with the authors' views. The authors of the materials are responsible for the credibility of facts. The manuscripts are not returned. For a full or partial citing, reprint, reproduction by any means the reference to the source is obligatory.

EDITORIAL BOARD

Chief Editor

Shabunin Sergey Viktorovich — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Academician of the RAS, Academic Director of FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy", Russia

Deputy Chief Editor

Kotarev Vyacheslav Ivanovich — Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Deputy Director of FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy", Russia

Tkacheva Yuliya Aleksandrovna — Executive Secretary

EDITORIAL COUNCIL

Chairman

Shakhov Aleksey Gavrilovich — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Corresponding Member of the RAS, Chief Scientific Associate of FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy", Russia

Editorial Council Members

Abilov Akhmedaga Imash ogly — Doctor of Biological Sciences, Professor, Chief Scientific Associate of FSBSI "Federal Science Center for Animal Husbandry named after Academician L. K. Ernst", Russia

Vostroilova Galina Anatolyevna — Doctor of Biological Sciences, Deputy Director for Science of FSBSI "ARVRIPP&T", Russia

Dzhavadov Eduard Dzhavadovich — Doctor of Veterinary Sciences, Prof., Academician of the RAS, Professor of the Department of Epizootology of FSBEI HE "Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine", Russia

Donnik Irina Mikhaylovna — Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of the RAS, Vice-President of the RAS, Russia

Dorozhkin Vasilii Ivanovich — Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of the RAS, Head of All-Russian Research Institute of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology — branch of FSBSI FSC VIEV RAS, Russia

Duskaev Galimzhan Kalikhanovich — Doctor of Biological Sciences, First Deputy Director, Principal Scientific Associate of Federal Scientific Center of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences (FSBSI FSC BS&A of the RAS)

Ermakova Tatyana Igorevna — Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Scientific Secretary of FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy", Russia

Klimenko Aleksandr Ivanovich — Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of FSBSI "Federal Rostov Agrarian Research Center", Russia

Kochish Ivan Ivanovich — Academician of the RAS, Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Head of the Department of Zoohygiene and Poultry Farming of FSBEI HE "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K. I. Skryabin", Russia

Maykanov Balgabay Sadepovich — Doctor of Biological Sciences, Professor, Professor of the Department of Veterinary Sanitation of "Kazakh Agro-technical University named after S. Seifullin", Republic of Kazakhstan

Okoniewski Piotr — DVM PhD, member of PTFARM and EAVPT, Poland

Parshin Pavel Andreevich — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Director of FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy", Russia

Pozyabin Sergey Vladimirovich — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Rector of FSBEI HE "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology — MVA named after K. I. Skryabin", Russia

Rypula Krzysztof — DVM PhD, Professor, Head of Epidemiology Dep., the Faculty of Veterinary Medicine, Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Poland

Safonov Vladimir Aleksandrovich — Doctor of Biological Sciences, Principal Scientific Associate of Federal State Budgetary Institution of Science of the Order of Lenin and the Order of the October Revolution Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry named after V. I. Vernadsky of the Russian Academy of Sciences (FSBIS IG&AC named after V. I. Vernadsky of the RAS)

Stekolnikov Anatolii Aleksandrovich — Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences. Head of the Department of General and Special Surgery of FSBEI HE "St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine", Russia

Chertov Evgeniy Dmitrievich — Doctor of Engineering Sciences, Professor, Head of the Department of FSBEI HE "Voronezh State University of Engineering Technologies", Russia

Yunusov Khudaynazar Beknazarovich — Doctor of Sciences, Academician of the RAS, Rector of Samarkand Institute of Veterinary Medicine, Uzbekistan

Yatusevich Anton Ivanovich — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Academician of the RAS, Head of the Department of Parasitology and Invasive Diseases, EE "Vitebsk Order 'Badge of Honour' State Academy of Veterinary Medicine", the Republic of Belarus

Bulletin of Veterinary Pharmacology
is included in the list of peer-reviewed scientific periodicals,
in which the main scientific results of dissertations for the degree
of Candidate of Sciences, for the degree of Doctor of Sciences
must be published (as of March 24, 2020)

Periodical name	ISSN	Scientific specialties and corresponding branches of science, in which scientific degrees are awarded	Date of inclusion of the periodical in the List
Bulletin of Veterinary Pharmacology	2541—8203	06.02.01 — Diagnosis of diseases and therapy of animals, pathology, oncology and morphology of animals (biological sciences), 06.02.01 — Diagnosis of diseases and therapy of animals, pathology, oncology and morphology of animals (veterinary sciences), 02.06.02 — Veterinary microbiology, virology, epizootology, mycology with mycotoxicology and immunology (biological sciences), 06.02.02 — Veterinary microbiology, virology, epizootology, mycology with mycotoxicology and immunology (veterinary sciences), 06.02.03 — Veterinary pharmacology with toxicology (biological sciences), 06.02.03 — Veterinary Pharmacology with Toxicology (veterinary sciences), 06.02.04 — Veterinary surgery (biological sciences), 06.02.04 — Veterinary surgery (veterinary sciences), 06.02.05 — Veterinary sanitation, ecology, zoohygiene and veterinary and sanitary expertise (biological sciences), 06.02.05 — Veterinary sanitation, ecology, zoohygiene and veterinary and sanitary expertise (veterinary sciences), 06.02.06 — Veterinary obstetrics and biotechnology of animal reproduction (veterinary sciences), 06.02.06 — Veterinary obstetrics and biotechnology of animal reproduction (biological sciences), 06.02.08 — Feed production, feeding of farm animals and feed technology (agricultural sciences), 06.02.08 — Feed production, feeding of farm animals and feed technology (biological sciences), 06.02.10 — Special zootechnics, production technology of livestock products (agricultural sciences)	Since February 28, 2020

The journal is included in the List of publications issued in the Russian Federation from February 28, 2020, approved by the Higher Attestation Commission, ISSN 2541-8203.

The articles of the journal are represented in the scientific electronic library (called elibrary.ru) and the journal is registered in the scientometric database of RSCI (Russian Science Citation Index) under the agreement No. 75—01 / 2015K dtd. January 19, 2015.

The journal is included in the List of major peer-reviewed scientific journals and publications recommended by the Higher Attestation Commission of the Russian Federation for the publication of the main scientific results of dissertations in candidacy for the Doctor's and Candidate's science degrees.

The address of the editorial office: 394087 Lomonosova 114b, Voronezh, Russia

Tel./fax + 7 (473) 253-92-81

<http://www.nivipat.ru> E-mail: vetfarm.journal@yandex.ru

ВЕТЕРИНАРНЫЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

*Научно-практический журнал
теоретических и экспериментальных
исследований в области ветеринарной
фармакологии и токсикологии*



Издается
с июня 2017 года
Периодичность
выпуска —
4 номера в год
Свидетельство
о регистрации
ПИ № ФС 77-69340
от 6 апреля 2017 г.

№ 3 (24) • 2023

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

Влияние полисорба ВП на биохимические показатели крови коров при хронической свинцовой интоксикации

Семенов М. П., Засеев А. Т., Семенов К. А. 8

Сравнительная токсикологическая характеристика фармацевтических субстанций, содержащих бис-четвертичные аммониевые соединения

*Рахматуллин Э. К., Василевский Н. М., Идиятов И. И., Маланьев А. В.,
Ямалова Г. Р., Халикова К. Ф., Хакимов М. С. 18*

Метаболические и патоморфологические аспекты гепатопротекторной активности селефлана на фоне развития острого модельного гепатита у птиц

*Семенов М. П., Рогалева Е. В., Абрамов А. А.,
Кузьминова Е. В., Гринь В. А. 30*

КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

Метаболический статус бройлеров родительского стада, инкубационные качества яиц и резистентность цыплят, полученных от них в разные периоды продуктивного использования

*Котарев В. И., Лядова Л. В., Денисенко Л. И.,
Иванова Н. Н., Чусова Г. Г. 40*

Клинико-эхографическая характеристика и диагностика гипоплазии эндометрия у молочных коров

Бондарев И. В., Михалев В. И., Толкачев И. С. 56

**Иммунный статус коров с разным сроком беременности
и в ранний послеродовой период**

*Паршин П. А., Востроилова Г. А., Бригадиров Ю. Н., Шапошников И. Т.,
Жуков М. С., Сашина Л. Ю., Акулова К. О., Якимчук О. В. 65*

**СРЕДСТВА ЗООГИГИЕНЫ, ДЕЗИНФЕКЦИИ,
ДЕЗИНСЕКЦИИ И ДЕРАТИЗАЦИИ**

**Оценка эффективности новых многокомпонентных
средств для детоксикации Т-2 токсина, афлатоксина В1
и зеараленона**

*Матросова Л. Е., Балакирев Н. А., Тарасова Е. Ю., Ерохондина М. А.,
Канин М. И. 81*

**Сравнение культуральных
и молекулярно-генетических методов идентификации
санитарно-показательных микроорганизмов**

*Калиткина К. А., Морозов В. Ю., Дорожкин В. И., Салеева И. П.,
Колесников Р. О., Черников А. Н., Колесникова М. С., Башир Х. 94*

**ПАТОФИЗИОЛОГИЯ, ПАТОБИОХИМИЯ
И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ**

**Иммуно-биохимический профиль у свиноматок
при патологическом течении послеродового периода**

*Бригадиров Ю. Н., Коцарев В. Н., Перепелкина И. С., Болдырев И. А.,
Ческидова Л. В., Близнецова Г. Н., Никоненко Г. В. 105*

**Состояние эритроцитарной системы при коморбидной
патологии у коров**

Алехин Ю. Н., Паршин П. А., Моргунова В. И., Тюрина Е. В., Лебедева А. Ю. 117

**Клинико-физиологическое состояние свиней
при использовании для их кормления зерна,
выращенного на полях с разным уровнем химизации**

Попова О. С., Паршин П. А., Алехин Ю. Н. 130

**Комплексный способ лечения коров при хроническом
эндометрите**

Болотова В. С., Михалев В. И., Манжурина О. А. 143

Условия публикации и правила оформления статей 156

BULLETIN OF VETERINARY PHARMACOLOGY

*Scientific-Practical Journal of Theoretical
and Experimental Studies in the Field
of Veterinary Pharmacology and Toxicology*



Established
in June, 2017

Published
4 times a year

Registration
certificate of the
PE № FS77-69340
dtd. April 6, 2017

No. 3 (24) • 2023

EXPERIMENTAL PHARMACOLOGY

Effect of polysorb VP on blood biochemical indicators of the cows with chronic lead intoxication

Semenenko M. P., Zaseev A. T., Semenenko K. A.13

Comparative toxicological characteristics of pharmaceutical substances containing bis-quaternary ammonium compounds

Rakhmatullin E. K., Vasilevskiy N. M., Idiyatov I. I., Malanyev A. V., Yamalova G. R., Khalikova K. F., Khakimov M. S.24

Metabolic and pathomorphological aspects of the hepatoprotective activity of selephlan against the background of the development of acute model hepatitis in poultry

Semenenko M. P., Rogaleva E. V., Abramov A. A., Kuzminova E. V., Grin V. A. . .35

CLINICAL PHARMACOLOGY

Metabolic status of broilers of the parent flock, hatching qualities of eggs and resistance of chickens obtained from them in various periods of productive use

Kotarev V. I., Lyadova L. V., Denisenko L. I., Ivanova N. N., Chusova G. G. . . .48

Clinical and echographic characteristics and endometrial hypoplasia in dairy cows

Bondarev I. V., Mikhalev V. I., Tolkachev I. S.61

Immune status of cows with various duration of gestation and in the early postpartum period

Parshin P. A., Vostroilova G. A., Brigadirov Yu. N., Shaposhnikov I. T., Zhukov M. S., Sashnina L. Yu., Akulova K. O., Yakimchuk O. V.73

.....
**AGENTS FOR ZOOHYGIENE, DISINFECTION,
DISINSECTIZATION AND DISINFESTATION**
.....

Efficacy evaluation of the new multicomponent agents for the detoxification of T-2 toxin, aflatoxin B1 and zearalenone

Matrosova L. E., Balakirev N. A., Tarasova E. Yu., Erokhondina M. A., Kanin M. I.88

Comparison of culture and molecular genetic methods for the identification of sanitary-indicatory microorganisms

Kalitkina K. A., Morozov V. Yu., Dorozhkin V. I., Saleeva I. P., Kolesnikov R. O., Chernikov A. N., Kolesnikova M. S., Bashir Kh.100

.....
**PATHOPHYSIOLOGY, PATHOBIOCHEMISTRY
AND EXPERIMENTAL THERAPY**
.....

Immunobiochemical profile in the sows with a pathological postpartum period

Brigadirov Yu. N., Kotsarev V. N., Perepelkina I. S., Boldyrev I. A., Cheskidova L. V., Bliznetsova G. N., Nikonenko G. V.111

State of the erythrocyte system in case of comorbid pathology in cows

Alekhin Yu. N., Parshin P. A., Morgunova V. I., Tyurina E. V., Lebedeva A. Yu. . . .124

Clinical and physiological state of pigs when feeding them with the grain grown in the fields with various levels of chemicalization

Popova O. S., Parshin P. A., Alekhin Yu. N.137

Complex method for the treatment of the cows with chronic endometritis

Bolotova V. S., Mikhalev V. I., Manzhurina O. A.150

Publishing terms and article formatting requirements156

ВЛИЯНИЕ ПОЛИСОРБА ВП НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ КОРОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Марина Петровна Семеновна*✉, Александр Тосолович Засеев**,
Ксения Андреевна Семеновна*

*Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии,
Краснодар, Россия

**Горский государственный аграрный университет,
Владикавказ, Республика Северная Осетия — Алания, Россия, sever291@mail.ru✉

Аннотация. В статье рассматривается вопрос влияния минерального энтеросорбента полисорб ВП на биохимический статус коров, содержащихся в условиях техногенной зоны. Эксперимент проведен в с. Кармадон Республики Северная Осетия — Алания на дойных коровах ($n = 12$), содержащихся на пастбищах при свободном выпасе. Животным опытной группы ежедневно в концентрированные корма добавлялся полисорб ВП из расчета 50,0 г на голову в течение 60 дней. Вторая группа коров служила контролем и находилась только на кормах основного рациона. Установлено, что использование полисорба ВП в течение 60 дней способствовало снижению уровня свинца в крови животных в 3,02 раза на фоне его увеличения у контрольных аналогов на 28,3 % от первоначальных значений. Энтеросорбент способствовал нормализации биохимического гомеостаза животных, что проявилось повышением концентрации общего белка на 17,8 %, альбуминов — на 27,1 %, глюкозы — на 40,3 %, общего кальция — в 1,72 раза, неорганического фосфора — в 1,65 раза при одновременном снижении активности ферментов печени — АсАТ — на 31,6 %, АлАТ — в 1,6 раза.

Ключевые слова: полисорб ВП, коровы, свинцовая интоксикация, кровь, биохимические показатели

Тенденции современного развития общества предусматривают новый концептуальный подход к модернизации и совершенствованию всех сфер хозяйственной деятельности, что влечет за собой усиление техногенеза, сопряженного с повышенной нагрузкой на объекты окружающей среды. При этом именно сельскохозяйственное производство в большей степени подвержено негативному антропогенному воздействию, обусловленному накоплением избыточного количества вредных веществ в почвах и естественных водоемах, а также загрязнением биосферы в результате прямого действия нерациональных способов земледелия и животноводства, приводящих к нарушению экосистемы [1, 2].

Путем решения данной проблемы может стать использование в кормовых рационах животных энтеросорбентов природного происхождения [3].

Энтеросорбция — один из наиболее древних методов эфферентной терапии, применяемый как в гуманной медицине, так и в ветеринарной практике, и относящийся к одному из направлений детоксикационной терапии, основанный на связывании и выведении из желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) эндогенных и экзогенных веществ, надмолекулярных структур и клеток, иными словами, ксенобиотиков (чужеродных для живых организмов химических веществ, естественно не входящих в биотический круговорот) путем адсорбции, ионообмена и комплексообразования [4].

Ключевые преимущества энтеросорбентов основаны на механизмах их сорбционной активности, обусловленной сочетанием как прямого действия, когда за счет сорбционных свойств происходит непосредственное связывание сорбентов с токсическими продуктами, так и непрямого (опосредо-

ванного) действия, когда вследствие экзо- и эндотоксикоза в организме происходит нарастание патологических реакций — аллергических, иммуносупрессивных, катаболических и др. [5].

Механизм действия энтеросорбентов обусловлен их способностью вступать в физические и/или химические взаимодействия с токсическими агентами, попадающими в желудочно-кишечный тракт. При этом уже в желудке происходит равномерное распределение сорбента с пищевыми компонентами и соляной кислотой. Однако процессы сорбции в своей активной фазе происходят только в тонком отделе кишечника, где под действием рН среды отмечается возрастание сорбционной емкости сорбента и проявление его максимальной способности к связыванию.

Кроме того, сорбенты способны выводить непереваренные остатки пищи (пищевые волокна) из толстого отдела кишечника, а также проявлять высокую каталитическую активность и ионнообменные свойства в организме [6].

К другим (непрямым) действиям энтеросорбентов относится защита слизистых оболочек от раздражающих агентов (обволакивающее действие) и цитопротекция, направленная на регуляцию слизистых секретов, усиление кровотока и пролиферативных процессов в клетках; структуризацию и видоизменение химического состава кишечного содержимого, неблагоприятного для размножения патогенной флоры [6].

Таким образом, применение энтеросорбентов в ветеринарии позволяет снизить действие токсических веществ, уменьшить нагрузку на печень — основной орган детоксикации, а также обеспечить системное дистантное действие на метаболические процессы живого организма и улучшить функциональную активность внутренних органов [7].

Цель исследований. В связи с вышесказанным, целью настоящей работы являлась оценка влияния энтеросорбента полисорб ВП на динамику биохимических показателей крови коров при хронической свинцовой интоксикации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Эксперимент проведен в с. Кармадон Республики Северная Осетия — Алания — находящемся в 35 км от г. Владикавказа и расположенном в горном массиве на высоте 1500 метров над уровнем моря на склоне горы Казбек.

На данном участке из дойных коров, содержащихся в личном подсобном хозяйстве, было сфор-

мировано две группы — опытная ($n = 12$) и контрольная ($n = 12$), которые днем содержались на пастбищах при свободном выпасе, а вечером возвращались в коровник. Дополнительно к рациону животным были предоставлены макро- и микроэлементные подкормки.

Перед началом эксперимента у коров из каждой группы была отобрана кровь для проведения биохимического анализа, предусматривающего определение в организме содержания свинца и выявления степени тяжести свинцовой интоксикации, а также оценки биохимической составляющей крови, после чего животным опытной группы ежедневно в концентрированные корма добавлялся энтеросорбент полисорб ВП из расчета 50,0 г на голову в течение 60 дней. Вторая группа коров служила контролем и находилась только на кормах основного рациона.

Полисорб ВП — высокочистый (не менее 92 % основного вещества), высокодисперсный, апирогенный кремнезем (производитель — ООО «Полисорб», Челябинская обл.). Размер частиц — не более 0,090 мкм, удельная поверхность — не менее 300 м²/г. Благодаря непористой структуре вся поверхность препарата легко доступна для сорбирующихся молекул любого размера. Гидрофилен хорошо смачивается водой, образуя с ней суспензию. Обладает уникальной сорбционной активностью: 1 г структурирует 15—20 г воды, способен связывать 300—800 мг белковых соединений, $1 \cdot 10^9$ и более микробных тел. Легкий мелкодисперсный порошок белого или белого с голубым оттенком цвета [8].

Уровень свинца в крови животных определили на атомно-адсорбционном спектрометре «МГА-1000». Биохимические исследования сыворотки крови — на автоматизированном анализаторе Vitalab Selectra Junior.

Полученные в опыте цифровые данные обработаны методами математической статистики, принятой в биологии и медицине, с помощью программного обеспечения фирмы Microsoft®.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При проведении биохимического анализа установлено, что в начале опытного периода концентрация свинца в сыворотке крови животных имела значительные колебания (от 1,01 до 1,52 мг/кг), что превышало верхние границы референсных значений в 1,68—2,53 раза. Средние показатели по концентрации данного токсиканта и его дальнейшая динамика в группах с учетом введения энтеросорбента представлены в таблице 1 и на рисунке 1.

Таблица 1

Влияние полисорба ВП на динамику концентрации свинца в крови коров ($M \pm m$; $n = 12$)

Группа	Концентрация свинца, мг/кг		
	Фон	через 30 дней	через 60 дней
Опытная	1,27 ± 0,26	0,89 ± 0,11	0,42 ± 0,09*
Контрольная		1,46 ± 0,25	1,63 ± 0,47

* $p < 0,05$ степень достоверности по отношению к группе контроля

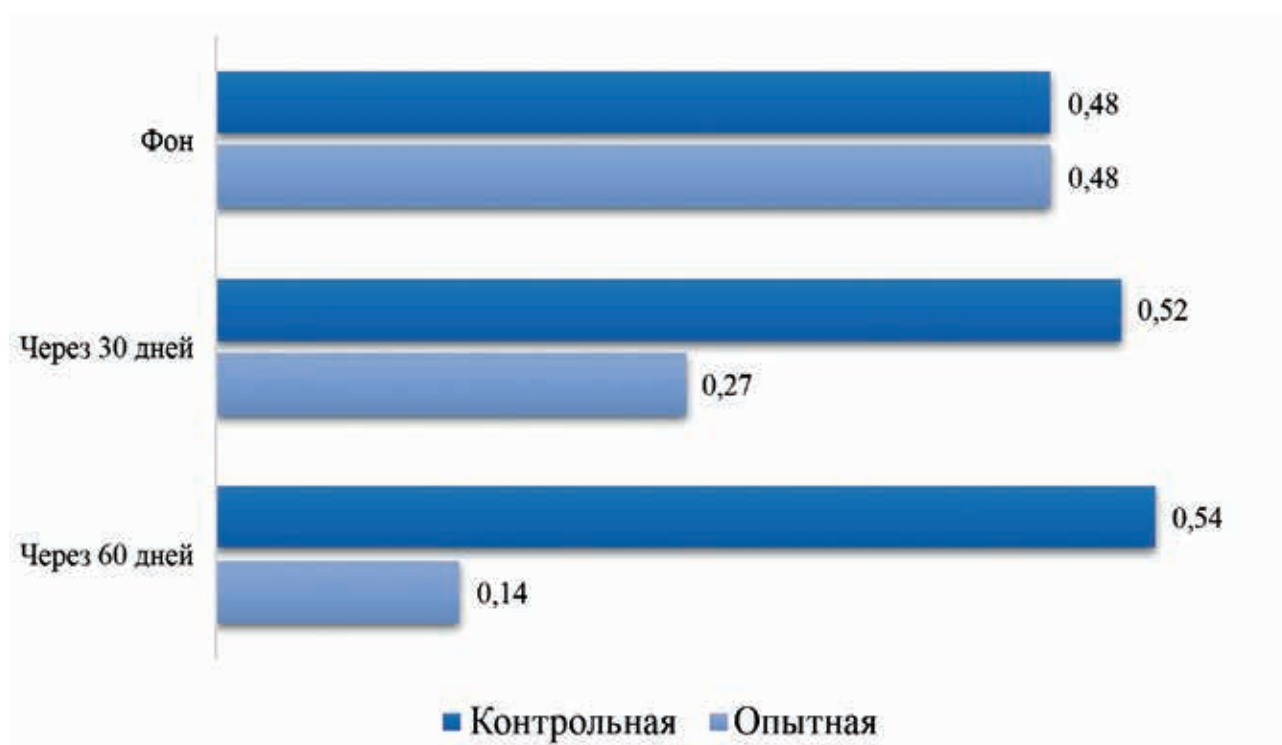


Рис. 1. Динамика концентрации свинца в крови коров под действием полисорба ВП

Использование полисорба ВП оказало выраженное влияние на снижение свинцовой интоксикации в организме опытных коров. Так, спустя 30 дней применения энтеросорбента уровень свинца в крови животных снизился на 29,9 %, а еще через месяц динамика его снижения составила 52,8 %. За 60 дней опытного периода концентрация свинца уменьшилась в 3,02 раза, достигнув границ нормы для крупного рогатого скота (Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к продукции (товарам), подлежащей санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) ЕСЭГТ 299 (Решение Комиссии таможенного союза от 28 мая 2010 года № 299)).

В контрольной группе регистрировалась обратная тенденция. Уровень свинца в крови коров не только не снизился, но, напротив, увеличился,

достигнув к 60 дню показателей $1,63 \pm 0,47$ мг/кг, что в процентном отношении к фоновым значениям составило +28,3 %. То есть, к окончанию эксперимента концентрация данного токсиканта превышала уровень МДУ в 2,72 раза.

Введение в кормовой рацион коров полисорба ВП оказало позитивное влияние на ряд биохимических показателей крови животных, в частности, на белковый, углеводный, ферментный и минеральный обмены.

По уровню протеинового обмена отмечена положительная динамика с достоверным увеличением концентрации общего белка в сыворотке крови опытных животных, который к концу исследований увеличился относительно аналогичного показателя в группе контроля на 13,5 %, относительно фоновых значений — на 17,8 % (табл. 2).

Таблица 2

Влияние полисорба ВП на белковый обмен коров ($M \pm m$; $n = 12$)

Группа		Показатели				
		Общий белок, г/л	Белковые фракции, %			
			альбумины	α -глобулины	β -глобулины	γ -глобулины
Контрольная	в начале опыта	68,3 \pm 0,41	32,7 \pm 3,24	13,1 \pm 0,23	17,2 \pm 0,72	37,0 \pm 3,42
	через 60 дней	68,9 \pm 4,93	36,1 \pm 3,05	14,2 \pm 2,17	18,0 \pm 0,90	31,7 \pm 1,73
Опытная	в начале опыта	66,4 \pm 2,19	35,4 \pm 2,01	14,9 \pm 1,52	13,1 \pm 1,48	36,6 \pm 2,64
	через 60 дней	78,2 \pm 3,01*	45,0 \pm 1,93	16,5 \pm 1,42	12,3 \pm 1,56	26,2 \pm 1,34

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ степень достоверности по отношению к группе контроля

Тогда как в контрольной группе уровень общего белка за время эксперимента практически не изменился, оставаясь за пределами нижних границ нормы [9]. Эти изменения отразились и на протеинограммах подопытных животных. Фракция альбуминов у опытных коров увеличилась на 27,1 % при прямой корреляции со значениями общего белка. Относительно контрольной группы коров отмечена тенденция к снижению β - и γ -глобулинов на 31,6 и 17,3 %, соответственно. То есть под действием полисорба ВП в протеинограммах коров произошла стабилизация фракционного состава, тогда как у животных, не получавших энтеросорбент, отчетливо проявлялся дисбаланс, обусловленный низкими значениями альбуминов на фоне увеличения β -глобулинов. Подобный тип протеинограмм свойственен выраженному токсикозу, при котором диспротеинемия происходит из-за преимущественной потери (вследствие повышенной проницаемости почечного фильтра) тех белков, которые отличаются сравнительно небольшой молекулярной массой. Концентрация глюкозы на начало эксперимента в обеих группах была низкой (табл. 3), однако у опытных коров на 60 день исследования ее значения увеличились на 40,3 %, тогда как у контрольных аналогов фиксировалось недостоверное повышение глюкозы на 6,7 % (на уровне тенденции).

На фоне введения полисорба ВП в корма наблюдалось достоверное снижение ферментной активности трансаминаз печени при одновременном увеличении этих показателей в группе контроля. К концу экспериментального периода уровень аспаратаминотрансферазы в крови опытных коров

снизился на 31,6 % ($p < 0,05$), аланинаминотрансферазы — в 1,62 раза ($p < 0,01$) относительно фоновых показателей. Межгрупповые различия по данным ферментам составили, соответственно, 24,5 и 40,0 % в пользу опытных животных.

Существенные изменения произошли и в минеральном обмене, в частности, динамике общего кальция, содержание которого в опытной группе к концу исследовательского периода достоверно ($p < 0,05$) увеличилось в 1,72 раза на фоне умеренного снижения в группе контрольных коров.

Изменение содержания неорганического фосфора в крови коров также было значимым — увеличение в 1,65 раза относительно фоновых показателей и в 1,62 раза относительно коров контрольной группы.

Это имеет положительное значение, так как хронический дефицит минеральных соединений для лактирующих коров приводит не только к ухудшению физиологических процессов в организме, но и снижению производства молока, а также формированию плода. Кроме того, данные микроэлементы используются микрофлорой для расщепления сложных углеводов и синтеза микробильного белка в преджелудках.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, ежедневное скармливание препарата полисорб ВП в составе комбикормов на протяжении 60 суток лактирующим коровам оказывает позитивное влияние на биохимические процессы организма животных и содействует уменьшению концентрации свинца в крови. Благодаря высокой

связующей способности, препарат сорбирует и выводит тяжелые металлы, повышая тем самым функциональную активность гепатоцитов и способствуя

активизации синтезобразующих процессов в них, что в конечном итоге приводит к увеличению ряда биохимических констант крови.

Таблица 3

Влияние полисорба ВП на углеводный, ферментный и минеральный обмен коров ($M \pm m$; $n = 12$)

Группа		Показатели					
		Глюкоза, ммоль/л	АсАТ, ЕД	АлАТ, ЕД	Кальций общий, ммоль/л	Фосфор неорганич., ммоль/л	Магний, ммоль/л
Контрольная	в начале опыта	1,05 ± 0,07	103,2 ± 6,24	51,4 ± 2,77	1,72 ± 0,14	0,84 ± 0,16	1,20 ± 0,06
	через 60 дней	1,12 ± 0,13	97,4 ± 6,18	54,2 ± 4,22	1,63 ± 0,18	0,81 ± 0,09	1,24 ± 0,03
Опытная	в начале опыта	1,24 ± 0,31	107,4 ± 4,82	52,7 ± 3,16	1,68 ± 0,29	0,79 ± 0,12	1,41 ± 0,12
	через 60 дней	1,74 ± 0,41	73,5 ± 5,43*	32,5 ± 2,4**	2,89 ± 0,36*	1,31 ± 0,37	1,55 ± 0,23

* $p < 0,05$

** $p < 0,01$ степень достоверности по отношению к группе контроля

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Алексахин Р. М.* Новейшие результаты исследований в области радиозоологии / Р. М. Алексахин, С. А. Гераськин, А. А. Удалова // Вестник Рос. акад. наук. — 2015. — Т. 85. — № 4. — С. 373—376.

2. *Бударков В. А.* Радиобиология. Радиационная безопасность сельскохозяйственных животных / В. А. Бударков, А. С. Зенкин, А. В. Васильев // М.: КолосС, 2018. — 440 с.

3. *Семенов М. П.* Клинико-экспериментальное обоснование применения сорбентов геологического происхождения в животноводстве и ветеринарии / М. П. Семенов, Н. П. Зуев, Л. А. Матюшевский, К. А. Семенов и др. — Монография. — Краснодар, 2021. — 200 с.

4. *Семенов М. П.* Энтеросорбция как метод общей детоксикации организма при сочетанных микотоксикозах у животных / М. П. Семенов, С. И. Кононенко, Е. В. Тяпкина, Е. В. Кузьминова // Инновации в АПК: проблемы и перспективы. — 2018. — № 1 (17). — С. 178—186.

5. *Архицкая Е. В.* Практическое значение и эффективность применения энтеросорбентов в животноводстве / Е. В. Архицкая, И. В. Якушкин // Электронный научно-метод. журнал Омского ГАУ. — 2016. — № S2. — С. 16.

6. *Николаев В. Г.* Современные энтеросорбенты и механизмы их действия / В. Г. Николаев, С. В. Михайловский, Н. М. Гурина // Эфферентная терапия. — 2005. — Т. 11. — № 4. — С. 3—17.

7. *Томчук В. А.* Энтеросорбенты, их свойства и применение / В. А. Томчук // Биология тварин. — 2014. — Т. 16. — № 1. — С. 148—159.

8. <https://www.vetorg.net/pharmacy/59/863/> Электронный ресурс [Дата обращения 10.04.2023].

9. *Васильева С. В.* Клиническая биохимия крупного рогатого скота / С. В. Васильева, Ю. В. Конопатов // Учебное пособие. — 2-е изд. испр. — СПб.: Издательство «Лань», 2017. — 188 с.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

М. П. Семенов — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник;

А. Т. Засеев — кандидат ветеринарных наук, доцент;

К. А. Семенов — кандидат экономических наук, старший научный сотрудник.

Статья поступила в редакцию 13.06.2023 г.

EFFECT OF POLYSORB VP ON BLOOD
BIOCHEMICAL INDICATORS OF THE COWS
WITH CHRONIC LEAD INTOXICATION

Marina Petrovna Semenenko*✉, Aleksandr Tosolovich Zaseev**, Kseniya Andreevna Semenenko*

*Krasnodar Scientific Center for Zootechnics and Veterinary Medicine, Krasnodar, Russia

**Mountain State Agrarian University, Vladikavkaz, North Ossetia — Alania, Russia, sever291@mail.ru✉

Abstract. The article deals with the issue of the effect of the mineral enterosorbent polysorb VP on the biochemical status of cows kept in the technogenic zone. The experiment was carried out on dairy cows ($n = 12$) kept on pastures with free grazing in Karmadon of the Republic of North Ossetia — Alania. The animals of the experimental group were daily added polysorb VP to the concentrated feed at the rate of 50.0 g per animal for 60 days. The second group of cows served as the control and was only fed the main diet. It was found that the use of Polysorb VP for 60 days contributed to a decrease in the blood level of lead in the animals by 3.02 times against the background of its increase in the control analogs by 28.3 % of the initial values. The enterosorbent contributed to the normalization of the biochemical homeostasis of animals, which was manifested by an increase in the concentration of total protein by 17.8 %, albumin — by 27.1 %, glucose — by 40.3 %, total calcium — by 1.72 times, inorganic phosphorus — by 1.65 times with a simultaneous decrease in the activity of liver enzymes: AST — by 31.6 %, ALT — by 1.6 times.

Keywords: polysorb VP, cows, lead intoxication, blood, biochemical indicators

Trends in the modern development of society provide for a new conceptual approach to the modernization and improvement of all spheres of economic activity, which entails an increase in technogenesis associated with an increased load on environmental objects. At the same time, it is agricultural production that is more susceptible to negative anthropogenic effect due to the accumulation of excessive amounts of harmful substances in soils and natural water bodies, as well as pollution of the biosphere as a result of the direct action of irrational methods of farming and animal husbandry, leading to ecosystem disruption [1, 2].

The solution to this problem can be the use of enterosorbents of natural origin in animal feed diets [3].

Enterosorption is one of the most ancient methods of efferent therapy, used both in human medicine and in veterinary practice, and belongs to one of the areas of detoxification therapy, based on the binding and excretion of endogenous and exogenous substances, supramolecular substances, structures and cells from the gastrointestinal tract (GIT), in other words, xenobiotics (chemical substances alien to living organisms, naturally not included in the biotic cycle) by adsorption, ion exchange and complexation [4].

The key advantages of enterosorbents are based on the mechanisms of their sorption activity, due to a combination of both direct action, when sorbents are directly bound to toxic products due to sorption properties, and indirect (mediated) action, when pathological reactions increase due to exo- and endotoxiosis in the body — allergic, immunosuppressive, catabolic, etc. [5].

The mechanism of action of enterosorbents is due to their ability to enter into physical and/or chemical interactions with toxic agents entering the gastrointestinal tract. In this case, even in the stomach there is a uniform distribution of the sorbent with food components and hydrochloric acid. However, sorption processes in their active phase occur only in the small intestine, where under the effect of the medium pH, an increase in the sorption capacity of the sorbent and the manifestation of its maximum binding ability are noted.

In addition, sorbents are able to remove undigested food residues (dietary fiber) from the large intestine, as well as exhibit high catalytic activity and ion-exchange properties in the body [6].

Other (indirect) actions of enterosorbents include protection of mucous membranes from irritating agents

(enveloping action) and cytoprotection aimed at regulating mucous secretions, increasing blood flow and proliferative processes in cells; structuring and modification of the chemical composition of the intestinal contents, unfavorable for the reproduction of pathogenic flora [6].

Thus, the use of enterosorbents in veterinary medicine can reduce the effect of toxic substances, reduce the load on the liver, the main organ of detoxification, as well as provide a systemic distant effect on the metabolic processes of a living organism and improve the functional activity of internal organs [7].

Research objective. In connection with the foregoing, the objective of this work was to evaluate the effect of enterosorbent polysorb VP on the dynamics of blood biochemical indicators in cows with chronic lead intoxication.

MATERIAL AND METHODS

The experiment was carried out in Karmadon of the Republic of North Ossetia-Alania, located 35 km from Vladikavkaz in a mountain area at an altitude of 1500 meters above sea level on the slope of the Mount Kazbek. On this site, two groups were formed from dairy cows kept at a private subsidiary plot: experimental ($n = 12$) and control ($n = 12$), which were kept on pastures with free grazing during the day, and returned to the barn in the evening. In addition to the diet, the animals were provided with macro- and micronutrient supplements.

Before the beginning of the experiment, blood was taken from cows from each group for biochemical analysis, which included determining the lead content in the body and determining the severity of lead intoxication, as well as assessing the blood biochemical component, after which the animals of the experimental group were daily added Polysorb VP to the concentrated feed enterosorbent from calculation of 50.0 g per animal for 60 days. The second group of cows served as the control and was only fed the main diet.

Polysorb VP — high-purity (not less than 92 % of the main substance), highly dispersed, pyrogen-free silica (manufacturer — Polysorb LLC, Chelyabinsk region). Particle size — not more than 0.090 mm, specific surface — not less than 300 m²/g. Due to the non-porous structure, the entire surface of the drug is easily accessible to adsorbed molecules of any size. Hydrophile is well wetted by water, forming a suspension with it. It has a unique sorption activity: 1 g structures 15—20 g of water, is able to bind 300—800 mg of protein compounds, 1·10⁹ or more microbial bodies. Light fine powder of white or white with a blue tint [8].

The blood level of lead in the animals was determined on an atomic absorption spectrometer “MGA-1000”. Biochemical studies of blood serum — on an automated analyzer Vitalab Selectra Junior.

The digital data obtained in the experiment were processed by the methods of mathematical statistics accepted in biology and medicine, using Microsoft® software.

STUDY RESULTS

When conducting a biochemical analysis, it was found that at the beginning of the experimental period, the blood serum lead concentration in the animals had significant fluctuations (from 1.01 to 1.52 mg/kg), which exceeded the upper limits of the reference values by 1.68—2.53 times. The average concentrations of this toxicant and its further dynamics in the groups, taking into account the introduction of the enterosorbent, are presented in Table 1 and Fig. 1.

The use of Polysorb VP had a pronounced effect on the reduction of lead intoxication in the body of the experimental cows. Thus, 30 days after using the enterosorbent, the blood level of lead in the animals decreased by 29.9 %, and after another month, the dynamics of its decrease was 52.8 %.

For 60 days of the experimental period, the concentration of lead decreased by 3.02 times, reaching the limits of the norm for cattle (Uniform Sanitary and Epidemiological and Hygienic Requirements for Products (Goods) Subjected to Sanitary and Epidemiological Supervision (Control) ESEGT 299 (Decision of the Commission of the Customs Union dtd. May 28, 2010 No. 299)). The reverse trend was recorded in the control group. The blood level of lead in the cows not only did not decrease, but, on the contrary, increased, reaching 1.63 ± 0.47 mg/kg by day 60, which, as a percentage to the baseline values was +28.3 %. That is, by the end of the experiment, the concentration of this toxicant exceeded the MRL level by 2.72 times.

The introduction of polysorb VP into the feed diet of cows had a positive effect on a number of the blood biochemical indicators of the animals, in particular, on protein, carbohydrate, enzyme and mineral metabolism.

According to the level of protein metabolism, positive dynamics was noted with a significant increase in the blood serum concentration of total protein in the experimental animals, which by the end of the study increased relative to the same indicator in the control group by 13.5 %, relative to the baseline values — by 17.8 % (Table 2).

Table 1

Effect of polysorb VP on the dynamics of the blood lead concentration in cows ($M \pm m$; $n = 12$)

Group	Lead concentration, mg/kg		
	Baseline	in 30 d	in 60 d
Experimental	1.27 ± 0.26	0.89 ± 0.11	0.42 ± 0.09*
Control		1.46 ± 0.25	1.63 ± 0.47

* $p < 0.05$ Degree of reliability in relation to the control group

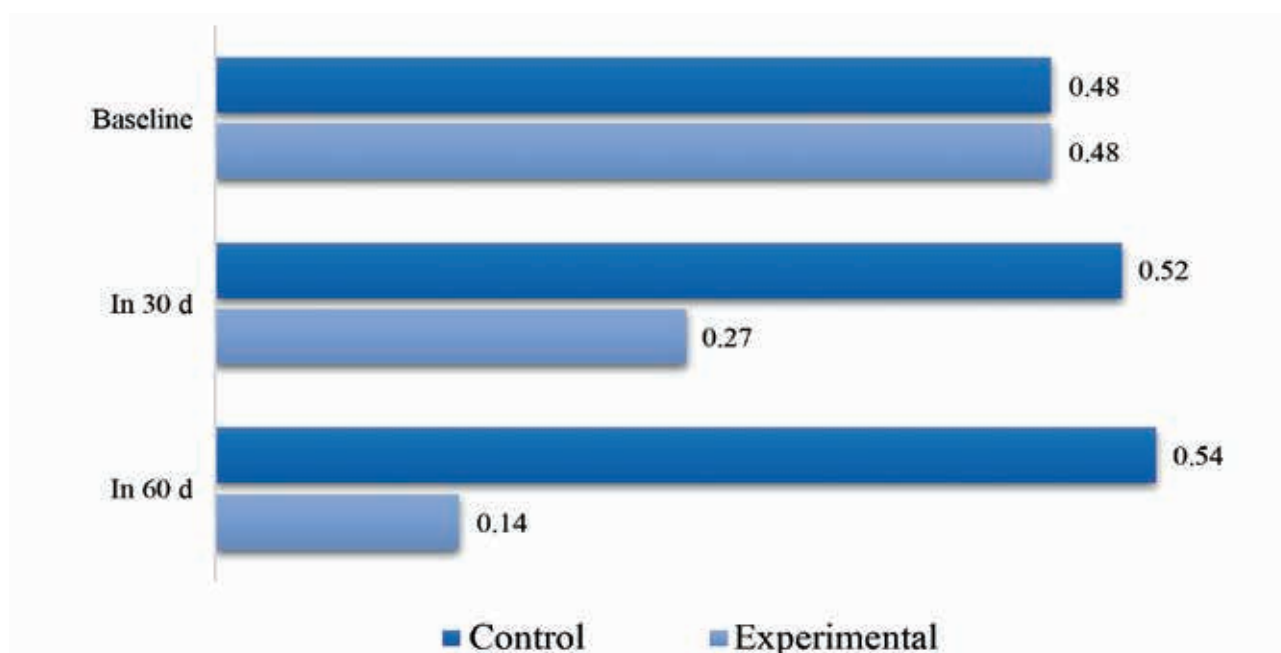


Fig. 1. Dynamics of the blood lead concentration in the cows under the effect of polysorb VP

Table 2

Effect of polysorb VP on protein metabolism in cows ($M \pm m$; $n = 12$)

Group		Indicators				
		Total protein, g/L	Protein fractions, %			
			albumins	α -globulins	β -globulins	γ -globulins
Control	at the beginning of the experiment	68.3 ± 0.41	32.7 ± 3.24	13.1 ± 0.23	17.2 ± 0.72	37.0 ± 3.42
	in 60 d	68.9 ± 4.93	36.1 ± 3.05	14.2 ± 2.17	18.0 ± 0.90	31.7 ± 1.73
Experimental	at the beginning of the experiment	66.4 ± 2.19	35.4 ± 2.01	14.9 ± 1.52	13.1 ± 1.48	36.6 ± 2.64
	in 60 d	78.2 ± 3.01*	45.0 ± 1.93	16.5 ± 1.42	12.3 ± 1.56	26.2 ± 1.34

* $p < 0.05$

** $p < 0.01$ Degree of reliability in relation to the control group

Whereas in the control group, the level of total protein practically did not change during the experiment, remaining outside the lower limits of the norm [9]. These changes were also reflected in the proteinograms of the experimental animals. The albumin fraction in the experimental cows increased by 27.1 % with a direct correlation with the total protein values. Relative to the control group of cows, there was a tendency to a decrease in β - and γ -globulins by 31.6 and 17.3 %, respectively.

That is, under the effect of Polysorb VP, the proteinograms of the cows stabilized the fractional composition, while in the animals that did not receive en-

terosorbent, an imbalance was clearly manifested due to low albumin values against the background of an increase in β -globulins. This type of proteinogram is typical of severe toxicosis, in which dysproteinemia occurs due to the predominant loss (due to an increased permeability of the renal filter) of those proteins that differ in relatively small molecular weight. The glucose concentration at the beginning of the experiment in both groups was low (Table 3), however, in the experimental cows on day 60 of the study, its values increased by 40.3 %, while in the control analogs an unreliable increase in glucose by 6.7 % was recorded (at the level of the trend).

Table 3

Effect of polysorb VP on carbohydrate, enzyme and mineral metabolism in cows ($M \pm m$; $n = 12$)

Group		Indicators					
		Glucose, mmol/L	AST, U	ALT, U	Total calcium, mmol/L	Inorganic phosphorus, mmol/L	Magnesium, mmol/L
Control	at the beginning of the experiment	1.05 \pm 0.07	103.2 \pm 6.24	51.4 \pm 2.77	1.72 \pm 0.14	0.84 \pm 0.16	1.20 \pm 0.06
	in 60 d	1.12 \pm 0.13	97.4 \pm 6.18	54.2 \pm 4.22	1.63 \pm 0.18	0.81 \pm 0.09	1.24 \pm 0.03
Experimental	at the beginning of the experiment	1.24 \pm 0.31	107.4 \pm 4.82	52.7 \pm 3.16	1.68 \pm 0.29	0.79 \pm 0.12	1.41 \pm 0.12
	in 60 d	1.74 \pm 0.41	73.5 \pm 5.43*	325. \pm 2.4**	2.89 \pm 0.36*	1.31 \pm 0.37	1.55 \pm 0.23

* $p < 0.05$

** $p < 0.01$ Degree of reliability in relation to the control group

Against the background of the introduction of polysorb VP into feed, a significant decrease in the enzymatic activity of liver transaminases was observed with a simultaneous increase in these indicators in the control group.

By the end of the experimental period, the level of aspartate aminotransferase in the blood of experimental cows decreased by 31.6 % ($p < 0.05$), alanine aminotransferase — by 1.62 times ($p < 0.01$) relative to the baseline values. Intergroup differences in these enzymes were 24.5 and 40.0 %, respectively, in favor of the experimental animals.

Significant changes also occurred in the mineral metabolism, in particular, the dynamics of total calcium, the content of which in the experimental group

significantly ($p < 0.05$) increased by 1.72 times by the end of the study period against the background of a moderate decrease in the group of the control cows.

The change in the blood content of inorganic phosphorus in the cows was also significant — an increase by 1.65 times, relative to the baseline indicators, and by 1.62 times, relative to the cows of the control group.

This has a positive meaning, since a chronic deficiency of mineral compounds for lactating cows leads not only to a deterioration in physiological processes in the body, but also to a decrease in milk production, as well as the formation of the fetus. In addition, these trace elements are used by microflora for the breakdown of complex carbohydrates and the synthesis of microbial protein in the proventriculi.

CONCLUSION

Thus, daily feeding of the drug Polysorb VP as part of compound feed to lactating cows for 60 days has a positive effect on the biochemical processes of the animal organism and helps to reduce the blood lead concentration. Due to its high binding capacity, the drug absorbs and removes heavy metals, thereby increasing the functional activity of hepatocytes and facilitating the activation of synthesizing processes in them, which ultimately leads to an increase in a number of blood biochemical constants.

REFERENCES

1. *Aleksakhin R. M.* Latest results of research in the field of radioecology / R. M. Aleksakhin, S. A. Geraskin, A. A. Udalova // *Vestnik Rossiyskoy Akademii Nauk (Bulletin of the Russian Academy of Sciences)*. — 2015. — V. 85. — No. 4. — P. 373—376.
2. *Budarkov V. A.* Radiobiology. Radiation safety of farm animals / V. A. Budarkov, A. S. Zenkin, A. V. Vasilyev // M.: KolosS, 2018. — 440 p.
3. *Semenenko M. P.* Clinical and experimental substantiation of the use of sorbents of geological origin in animal husbandry and veterinary medicine / M. P. Semenenko, N. P. Zuev, L. A. Matyushevskiy, K. A. Semenenko et al. — Monograph. — Krasnodar, 2021. — 200 p.
4. *Semenenko M. P.* Enterosorption as a method of general detoxification of the organism in case of combined mycotoxicoses in animals / M. P. Semenenko, S. I. Kononenko, E. V. Tyapkina, E. V. Kuzminova // *Innovatsii v APK: problemy i perspektivy (Innovations in the agroindustrial complex: problems and perspectives)*. — 2018. — No. 1 (17). — P. 178—186.
5. *Arkhitskaya E. V.* Practical significance and efficiency of enterosorbents in animal husbandry / E. V. Arkhitskaya, I. V. Yakushkin // *Elektronnyy nauchno-metod. zhurnal Omskogo GAU (Electronic Scientific and Method. Journal of Omsk SAU)*. — 2016. — No. S2. — P. 16.
6. *Nikolaev V. G.* Modern enterosorbents and mechanisms of their action / V. G. Nikolaev, S. V. Mikhaylovskiy, N. M. Gurina // *Efferentnaya terapiya (Efferent therapy)*. — 2005. — V. 11. — No. 4. — P. 3—17.
7. *Tomchuk V. A.* Enterosorbents, their properties and application / V. A. Tomchuk // *Biology of creatures*. — 2014. — V. 16. — No. 1. — P. 148—159.
8. <https://www.vettorg.net/pharmacy/59/863/> Electronic resource [Date of access 10.04.2023].
9. *Vasilyeva S. V.* Clinical biochemistry of cattle / S. V. Vasilyeva, Yu. V. Konoplatov // *Textbook*. — 2nd ed. correct — St. Petersburg.: Publishing house “Lan”, 2017. — 188 p.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

M. P. Semenenko — Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate;

A. T. Zaseev — Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor;

K. A. Semenenko — Candidate of Economic Sciences, Senior Scientific Associate.

The article was submitted 13.06.2023.

Научная статья

УДК 577.1+619:615

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2023.3.18

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЙ, СОДЕРЖАЩИХ БИС-ЧЕТВЕРТИЧНЫЕ АММОНИЕВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

Эмиль Касымович Рахматуллин[✉], Николай Михайлович Василевский,
Ильгиз Ильясович Идиятов, Андрей Валериянович Маланьев,
Гузалия Рустамовна Ямалова, Кадрия Фагимовна Халикова,
Максим Сергеевич Хакимов

*Федеральный центр токсикологической, радиационной
и биологической безопасности, Казань, Россия, amil59@yandex.ru[✉]*

Аннотация. Проведено исследование на лабораторных грызунах по сравнительному изучению острой токсичности, кумулятивных свойств и влияния на гематологические показатели фармацевтических субстанций, содержащих производные бис-четвертичных аммониевых соединений, обладающих обездвиживающим действием. В ходе экспериментов были исследованы фармацевтические субстанции под шифрами МА-17 (содержащая бис-диметилсульфат-диметиламиноэтиловый эфир терефталевой кислоты) и МА-23 (содержащая бис-диметилсульфат диметиламиноэтилового эфира труксилловой кислоты). Фармацевтические субстанции животным вводили внутримышечно. Установлено, что величина ЛД₅₀ МА-17 и МА-23 для лабораторных мышей составляет соответственно 1,03 и 1,21 мг/кг массы тела. Величина ЛД₅₀ МА-17 и МА-23 для лабораторных крыс составляет соответственно 2,02 и 2,5 мг/кг массы тела.

В результате изучения кумулятивных свойств МА-17 установлено, что ЛД₅₀ данного соединения при многократном введении составляет 7,27 мг/кг массы тела. Коэффициент кумуляции (K_k) составил 3,6. При изучении кумулятивных свойств МА-23 было установлено, что ЛД₅₀ данного соединения при многократном введении составляет 13,38 мг/кг массы тела, K_k составил 5,4.

После внутримышечного введения МА-17 в дозе 1,8 мг/кг и МА-23 в дозах 1,7; и 2,0 мг/кг массы тела, достоверных различий гематологических показателей между опытной и контрольной группами животных отмечено не было. Проведенные экспериментальные исследования показали, что по токсикологическим показателям МА-23 менее токсичен, чем МА-17. Это различие связано с разным строением межониевой части молекул МА-23 и МА-17. В МА-17 в качестве межониевой части молекулы двухосновной кислоты используется терефталевая кислота, а в МА-23 — труксилловая кислота. Эти данные позволяют разработать направление синтеза фармацевтических субстанций, обладающих обездвиживающим действием, и рекомендовать МА-23 в качестве действующего вещества при разработке новых препаратов.

Ключевые слова: химический синтез, острая токсичность, кумуляция, клиническая картина, гематологические показатели, иммобилизация

Для успокоения диких, домашних и сельскохозяйственных животных используются специальные обездвиживающие препараты. На сегодняшний день спектр препаратов для обездвиживания животных отечественного производства весьма ограничен. В связи с этим необходимо совершенствовать средства ветеринарной медицины, предназначенные для временного обездвиживания животных.

Иммобилизация животных фармакологическими средствами основана на временной потере ими двигательной способности. Этот метод отлова и фиксации позволяет безопасно работать с дикими и домашними животными [1—3].

Разработка, синтез новых препаратов, обладающих обездвиживающим действием, изучение их токсичности и безопасности является актуальной

© Рахматуллин Э. К., Василевский Н. М., Идиятов И. И., Маланьев А. В., Ямалова Г. Р., Халикова К. Ф., Хакимов М. С., 2023

задачей современной ветеринарной фармакологии и токсикологии.

Поэтому целью нашей работы являлось сравнительное изучение токсичности и безопасности фармацевтических субстанций, содержащих производные бис-четвертичных аммониевых соединений.

Для реализации данной цели была поставлена следующая задача: изучить показатели острой токсичности и кумулятивное действие фармацевтических субстанций, содержащих производные бис-четвертичных аммониевых соединений, а также влияние на гематологические показатели крови лабораторных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проведены в отделении токсикологии ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (г. Казань).

МА-17 — условное обозначение фармацевтической субстанции, содержащей бис-диметилсульфат-диметиламиноэтиловый эфир терефталевой кислоты. МА-23 — условное обозначение фармацевтической субстанции, содержащей бис-диметилсульфат диметиламиноэтилового эфира труксиловой кислоты.

Изучение показателей острой токсичности МА-17 и МА-23 проводили на 65 самках белых крыс живой массой 180—240 г и на 70 самках белых мышей живой массой 18—22 г. В эксперименте использовали клинически здоровых животных. Экспериментальные животные находились в одинаковых условиях кормления и содержания с соблюдением всех санитарно-гигиенических требований [4].

В ходе опытов определяли общее состояние животных, особенности их поведения, интенсивность и характер двигательной активности, наличие и характер судорог, координацию движений, потребление пищи, воды, и изменение массы тела.

Определение ЛД₅₀ проводили методом пробит-анализа, предложенным Миллером и Тейнтером [5].

Исследуемые фармацевтические субстанции вводили животным внутримышечно. В качестве растворителя использовали воду для инъекций. Для определения ЛД₅₀ МА-17 на лабораторных мышцах тестировали следующие дозы: 0,6; 0,9; 1,1; 1,2; 1,4 мг/кг массы тела. Для определения ЛД₅₀ МА-17 на лабораторных крысах тестировали следующие дозы: 1,5; 1,8; 2,0; 2,2; 2,6 мг/кг массы тела.

Для определения ЛД₅₀ МА-23 на лабораторных мышцах тестировали следующие дозы: 0,5; 1,1; 1,3;

1,4 и 1,5 мг/кг массы тела. Для определения ЛД₅₀ МА-23 на лабораторных крысах тестировали следующие дозы: 1,0; 1,7; 2,3; 2,6; 2,8 и 3,0 мг/кг массы тела. Животным контрольной группы вводилась вода для инъекций.

Изучение кумулятивных свойств МА-17 и МА-23 проводили на 50 самках белых крыс по методу Лима. Животные были разделены на две группы по 25 голов в каждой. Животным первой группы вводили МА-17. Животным второй группы вводили МА-23. Начальная вводимая доза составляла 0,1 от одной ЛД₅₀. Каждые 4 дня эту дозу увеличивали в 1,5 раза. Степень кумулятивного действия выражали коэффициентом кумуляции, представляющим собой отношение суммарной дозы вещества, вызывающей гибель 50 % подопытных животных при его многократном введении животным, к дозе, вызывающей гибель 50 % животных после однократного введения [6, 7].

Для изучения влияния МА-17 и МА-23 на гематологические показатели крови крыс были скомпонованы 4 группы животных 2—3-месячного возраста по пять голов в каждой. Крысам первой группы внутримышечно вводили МА-23 в дозе 1,7 мг/кг, крысам второй группы внутримышечно вводили МА-23 в дозе 2 мг/кг, крысам третьей группы внутримышечно вводили МА-17 в дозе 1,8 мг/кг массы тела. Крысам контрольной группы вводили внутримышечно воду для инъекций в объеме 0,1 мл. Кровь для исследований брали у животных через 15 мин после введения соединений с наступлением иммобилизирующего эффекта. Гематологические исследования включали определение количества эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина с помощью гематологического анализатора «Mythic 18 Vet».

Данные экспериментальных исследований обрабатывали методом вариационной статистики. Для этой цели использовали прикладное программное обеспечение STATISTICA. Работу проводили согласно практическому руководству для пользователей [8]. Статистическую значимость различий устанавливали по величине критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Обязательным условием применения новых ветеринарных препаратов является предшествующее проведение токсикологических исследований на лабораторных животных.

При введении крысам МА-17 в дозе 1,2 мг/кг массы тела видимых клинических изменений в поведении и в общем состоянии не наблюдалось. При

введении токсических доз клинические признаки характеризовались возбуждением, угнетением, учащенным дыханием, одышкой и миофибрилляцией.

В ходе проведенных экспериментов было установлено, что при введении МА-23 в дозе 1,7 мг/кг массы тела видимых клинических изменений в поведении и общем состоянии не наблюдалось. Обездвиживающее действие МА-23 наблюдалось у животных через 10—15 мин после введения дозы 1,9 мг/кг и продолжалось в течение 12—15 мин.

Фармацевтическая субстанция под условным названием МА-23 оказалась наиболее эффективной, проявляющей обездвиживающее действие. При введении токсических доз МА-23 у животных отмечалось угнетенное состояние, нарушение координации движений, одышка и миофибрилляция. Гибель всех животных наступала через 13—15 минут после остановки дыхания.

Результаты исследований параметров острой токсичности представлены в таблице 1.

Таблица 1

Параметры острой токсичности фармацевтических субстанций МА-17 и МА-23

Параметры острой токсичности, мг/кг массы тела				
ЛД ₀	ЛД ₁₆	ЛД ₅₀ с доверительными интервалами	ЛД ₈₄	ЛД ₁₀₀
МА-17				
Лабораторные мыши				
0,6	0,9	1,03 (0,91÷1,29)	1,36	1,4
Лабораторные крысы				
1,5	1,72	2,02 (1,79÷2,29)	2,36	2,6
МА-23				
Лабораторные мыши				
0,8	1,1	1,21 (1,06÷1,37)	1,41	1,5
Лабораторные крысы				
1,9	2,06	2,50 (2,15÷2,77)	2,87	3,0

Анализируя данные таблицы 1, необходимо отметить то, что наиболее токсичным является субстанция МА-17, наиболее чувствительным из лабораторных грызунов являются мыши. На основании проведенных исследований можно сделать заключение о том, что по величине ЛД₅₀ для лабораторных крыс субстанции МА-17 и МА-23 относятся к 1 классу токсичности и опасности в соответствии с ГОСТ 12.1.007—76 и по классификации И. В. Березовской [9].

В соответствии с классификацией Организации экономического сотрудничества и развития (ОЕСД) МА-17 и МА-23 относятся к высокотоксичным соединениям [10].

В результате изучения кумулятивных свойств субстанции МА-17 установили, что 50 % животных пало на 10 сутки опыта. ЛД₅₀ при многократ-

ном введении данного соединения за этот период составила 7,27 мг/кг массы тела, К_к составил 3,6.

При изучении кумулятивных свойств субстанции МА-23 было установлено, что 50 % животных погибли на 20-й день эксперимента. ЛД₅₀ данной субстанции при многократном введении за этот период составила 13,38 мг/кг массы тела, К_к составил 5,4.

Результаты исследований кумулятивных свойств фармацевтических субстанций МА-17 и МА-23 представлены в таблице 2.

Анализируя данные таблицы 2, необходимо отметить то, что наиболее токсичным при многократном введении и наиболее кумулятивным является МА-17. Согласно методическим указаниям по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии, если К_к > 1,

то это позволяет отнести их к группе лекарственных средств, у которых отсутствуют кумулятивные свойства [11]. Согласно методическим указаниям

по изучению общетоксического действия фармакологических веществ, если $K_k < 1$, то это кумуляция, если $K_k > 1$, то привыкание [7].

Таблица 2

Кумулятивные свойства фармацевтических субстанций МА-17 и МА-23

Название соединения	ЛД ₅₀ при однократном введении	Суммарная доза ЛД ₅₀ при многократном введении	Коэффициент кумуляции, K_k
МА-17	2,02	7,27	3,6
МА-23	2,50	13,38	5,4

Комплексная оценка острой токсичности и кумулятивных свойств МА-17 и МА-23 позволили их классифицировать по степени опасности токсического действия.

В таблице 3 приведены данные по классификации опасности токсического действия МА-17 и МА-23.

Анализируя данные таблицы 3 необходимо отметить, что согласно классификации степени опасности токсического действия лекарственных

средств и ветеринарных препаратов по коэффициенту кумуляции и дозовому уровню токсического действия МА-17 относится к высоко опасным, МА-23 — умеренно опасным. По индексу широты терапевтического действия МА-17 и МА-23 относятся к высоко опасной группе.

В соответствии с классификацией степени опасности токсического действия лекарственных средств по коэффициенту кумуляции МА-23 относится к умеренно опасной группе [11, 12].

Таблица 3

Классификация степени опасности токсического действия фармацевтических субстанций МА-17 и МА-23

Критерий опасности	Степень опасности		
	высоко	умеренно	мало
Коэффициент кумуляции	1...5	> 5...10	> 10
МА-17	3,6		
МА-23		5,4	
Дозовый уровень токсического действия в эксперименте	1 ЭД ₅₀	> 5 ЭД ₅₀	> 10 ЭД ₅₀
МА-17	+		
МА-23		+	
Индекс широты терапевтического действия (ЛД ₅₀ /терапевтическая доза)	5...15	> 15...45	> 45
МА-17	1,1		
МА-23	1,5		

Важным аспектом выявления потенциальной опасности лекарственных препаратов для человека и животных является исследование гематологических показателей. Попадая в кровь, лекарства способны вызвать ряд гематологических

сдвигов, которые могут сопровождаться отсутствием клинических проявлений интоксикации [13]. Исследование форменных элементов крови является доступной, чувствительной, информативной формой обследования и может дать полезную ин-

формацию для раскрытия патогенетических основ интоксикаций. Изучая морфофункциональную характеристику клеток крови, можно обнаружить изменение на уровне клеток и субклеточных структур. Следует учесть и то, что эритроциты активно участвуют в транспорте и обезвреживании токсических веществ, а их оболочка является уникальным адсорбентом [14].

В связи с этим мы изучали гематологические показатели крови крыс после внутримышечного

введения МА-17 и МА-23. После внутримышечного введения МА-23 в дозах 1,7 и 2 мг/кг массы тела крысам иммобилизирующий эффект наступал через 15 минут. После внутримышечного введения крысам МА-17 в дозе 1,8 мг/кг иммобилизирующий эффект наступал через 15 минут, однако одновременно у животных возникали судороги.

Результаты гематологических исследований после введения МА-17 и МА-23 представлены в таблицах 4.

Таблица 4

Гематологические показатели белых крыс после введения фармацевтических субстанций МА-17 и МА-23 (M ± m)

Показатель	Ед. изм.	Контроль	МА-23		МА-17
			Доза, мг/кг массы тела		
			1,7	2,0	1,8
Эритроциты	10 ¹² /л	8,75 ± 0,29	7,81 ± 0,30	7,68 ± 0,34*	6,25 ± 0,32**
Гемоглобин	г/л	132,6 ± 4,21	132,8 ± 4,33	142,6 ± 4,46	89,1 ± 0,24***
Лейкоциты	10 ⁹ /л	6,12 ± 0,23	6,25 ± 0,27	6,37 ± 0,25	5,91 ± 0,28

* $p < 0,05$

** $p < 0,001$

*** $p = 0,00001$

Анализируя данные таблицы 4, следует отметить, что после внутримышечного введения фармацевтической субстанции МА-23 в дозе 1,7 мг/кг достоверных различий гематологических показателей между опытными и контрольными группами животных не наблюдалось. Содержание эритроцитов в крови белых крыс после введения соединения МА-23 в дозе 2,0 мг/кг массы тела было достоверно ниже, чем у контрольной группы ($p < 0,05$).

Содержание эритроцитов и гемоглобина в крови крыс опытной группы после внутримышечного введения МА-17 в дозе 1,8 мг/кг массы тела было достоверно ниже, чем в контрольной группе ($p < 0,001$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных экспериментов, установили, что субстанция МА-23 по фармакологическим и токсикологическим показателям эффективнее и менее токсична, чем МА-17. По всей вероятности, это различие связано с разным строением межониевой части молекул. В синтезе фармацевтической субстанции МА-17 в качестве межониевой части молекулы двухосновной кислоты ис-

пользуется терефталевая кислота, а в синтезе фармацевтической субстанции МА-23 используется труксиловая кислота. Полученные данные позволяют разработать направление синтеза фармацевтических субстанций, обладающих обездвиживающим действием.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Donaldson AC, Meyer LCR, Fuller A, Buss PE. Comparison of the cardiovascular effects of immobilization with three different drug combinations in free-ranging African lions. *Conserv Physiol.* 2023 Jan 12; 11(1): coac077. doi: 10.1093/conphys/coac077. PMID: 36655170; PMCID: PMC9835075.

2. Исследование токсичности и эффективности препарата М-3 на белых крысах / А. В. Маланьев, Г. Р. Ямалова, К. Ф. Халикова [и др.] // Современные проблемы экспериментальной и клинической токсикологии, фармакологии и экологии: Сборник тезисов докладов Международной научно-практической конференции, Казань, 09—10 сентября 2021 года. — Казань: Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, 2021. — С. 227—229. — EDN MJPLUP.

3. Влияние периферических релаксантов «МА-6» и «МА-7» на клинические, гематологические и биохимические показатели белых крыс

мические показатели белых крыс / К. Ф. Халикова, Г. Р. Ямалова, А. В. Маланьев [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. — 2022. — Т. 251, № 3. — С. 283—288. — DOI 10.31588/2413_4201_1883_3_251_283. — EDN CXSONV.

4. ГОСТ 33216—2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами. — М.: Стандартинформ, 2016. — 16 с.

5. Бельский М. Б. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. — Л.: Медгиз; 1963.

6. Методические указания по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве (извлечение из нормативных и методических документов, утв. МЗ СССР, ВАСХНИЛ, ГУВ Госагропрома СССР) // Справочник «Ветеринарные препараты». М.: ВО Агропромиздат, 1988. — С. 239—289.

7. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. А. Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2012. — 944 с.

8. Солнцева О. В., Севастьянов А. В. Анализ статистических данных в пакете STATISTICA. Практическое руководство для пользователей. — Ульяновск, ГСХА, 2004—43 с.

9. Березовская И. В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения / И. В. Березовская. // Хим.-фарм. Журнал. — 2003. — т. 37. — № 3. — С. 32—34.

10. Технический кодекс установившейся практики 125—2008 (02040) «Надлежащая лабораторная практика», утвержденный Постановлением МЗ РБ от 28.03.08 № 56. С. 28

11. Березовская И. В. Прогноз безопасности лекарственных средств в доклинических токсикологических исследованиях / И. В. Березовская // Токсикологический вестник: науч.-практ. журнал. — 2010. — № 5. — С. 17—22.

12. Рахматуллин Э. К. Изучение токсичности ветеринарных препаратов на доклиническом этапе / Э. К. Рахматуллин, О. Д. Скляр // Вестник российской сельскохозяйственной науки. — 2019. — № 5. — С. 61—64.

13. Mintzer DM, Billet SN, Chmielewski L. Drug-induced hematologic syndromes. Adv Hematol. 2009; 2009:495863. doi: 10.1155/2009/495863. Epub 2009 Jul 7. PMID: 19960059; PMCID: PMC2778502.

14. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: Справочник / Под ред. проф. И. П. Кондрахина // И. П. Кондрахин, А. В. Архипов, В. И. Левченко, Г. А. Таланов, Л. А. Фролова, В. Э. Новиков — М.: КолосС. — 2004. — С. 88.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Э. К. Рахматуллин — доктор ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник;
Н. М. Василевский — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник;
И. И. Идиятов — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник;
А. В. Маланьев — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник;
Г. Р. Ямалова — младший научный сотрудник;
К. Ф. Халикова — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник;
М. С. Хакимов — кандидат химических наук, научный сотрудник.

Статья поступила в редакцию 01.06.2023 г.

Original article
UDC 577.1+619:615

COMPARATIVE TOXICOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PHARMACEUTICAL SUBSTANCES CONTAINING BIS-QUATERNARY AMMONIUM COMPOUNDS

Emil Kasymovich Rakhmatullin[✉], Nikolay Mikhaylovich Vasilevskiy,
Ilgiz Ilyasovich Idiyatov, Andrey Valeriyevich Malanyev, Guzaliya Rustamovna Yamalova,
Kadriya Fagimovna Khalikova, Maksim Sergeevich Khakimov

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russia, amil59@yandex.ru[✉]

Abstract. A comparative study of acute toxicity, cumulative properties and the effect on hematological parameters of pharmaceutical substances containing derivatives of bis-quaternary ammonium compounds with an immobilizing effect was carried out on laboratory rodents. MA-17, the code name of the pharmaceutical substance containing bis-dimethylsulfate-dimethylaminoethyl ether of terephthalic acid, and MA-23, the code name of the pharmaceutical substance containing bis-dimethylsulfate of dimethylaminoethyl ester of truxyl acid, were investigated during the experiments. Pharmaceutical substances were administered intramuscularly. It has been established that the LD₅₀ of MA-17 and MA-23 in laboratory mice is 1.03 and 1.21 mg/kg, respectively. The LD₅₀ of MA-17 and MA-23 in laboratory rats is 2.02 and 2.5 mg/kg, respectively.

As a result of studying the cumulative properties of MA-17, it has been found that the LD₅₀ after multiple administration of this compound is 7.27 mg/kg. The cumulation coefficient (C_c) is 3.6. The LD₅₀ of MA-23 after multiple administration is 13.38 mg/kg, C_c is 5.4.

There were no significant differences in hematological parameters between the experimental and control groups after intramuscular administration of MA-17 at a dose of 1.8 mg/kg and MA-23 at doses of 1.7 and 2.0 mg/kg. The conducted experimental studies have shown that MA-23 is less toxic than MA-17. This distinction is due to the difference of space (part) between charged amino groups of MA-23 and MA-17 molecules. Terephthalic acid is used as a part between charged amino groups of the dibasic acid molecule in MA-17 substance, and truxyl acid — in MA-23. These data allow to develop a direction for the synthesis of immobilizing pharmaceutical substances and recommend MA-23 as an active substance in the development of new compounds.

Keywords: chemical synthesis, acute toxicity, cumulation, clinical picture, hematological parameters, immobilization

Special immobilizing preparations are used to calm wild, domestic and farm animals. Currently, the range of drugs for immobilizing domestic animals is quite limited. In this regard, it is necessary to improve veterinary medicines for the temporary animal immobilization.

Pharmacological immobilization of animals is based on the temporary loss of their motor activity. This trapping and fixing method provides safe work with wild and domestic animals [1—3].

The development and synthesis of new drugs with an immobilizing effect and their toxicity and safety studying are an urgent task of modern veterinary pharmacology and toxicology.

Therefore, the purpose of our work was a comparative study of the toxicity and safety of pharmaceutical substances containing derivatives of bis-quaternary ammonium compounds.

To achieve the goal, the task of studying of pharmaceutical substances, containing derivatives of bis-quaternary ammonium compounds, acute toxicity, its cumulation and effect on hematological blood parameters in laboratory rats was set.

MATERIAL AND METHODS

Experiments were conducted at the Department of Toxicology of the Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety (Kazan).

© Rakhmatullin E. K., Vasilevskiy N. M., Idiyatov I. I., Malanyev A. V., Yamalova G. R., Khalikova K. F., Khakimov M. S., 2023

MA-17 is the code name for a pharmaceutical substance containing bis-dimethylsulfate-dimethylaminoethyl ester of terephthalic acid. MA-23 is the code name of a pharmaceutical substance containing truxyl acid dimethylaminoethyl ester bis-dimethyl sulfate.

The study of acute toxicity parameters of MA-17 and MA-23 was carried out on 65 female white rats weighing 180—240 g and 70 female white mice weighing 18—22 g.

Clinically healthy animals were used in the experiments. Experimental animals were kept in the same conditions of feeding and maintenance in accordance with all sanitary and hygienic requirements [4].

During the experiments, the general animal condition, their behavior features, the intensity and nature of motor activity, the presence and nature of convulsions, coordination of movements, food and water consumption, and changes in body weight were examined.

The LD₅₀ was calculated by the method of probit analysis proposed by Miller and Tainter [5].

Investigated pharmaceutical substances were injected intramuscularly to animals. Water for injection was used as a solvent. To establish the LD₅₀ of MA-17 in laboratory mice, the following doses were tested: 0.6, 0.9, 1.1, 1.2, 1.4 mg/kg. To determine the LD₅₀ of MA-17 in laboratory rats, the following doses were tested: 1.5, 1.8, 2.0, 2.2, 2.6 mg/kg.

To establish the LD₅₀ of MA-23 in laboratory mice, the following doses were tested: 0.5, 1.1, 1.3, 1.4 and 1.5 mg/kg. To determine the LD₅₀ of MA-23 in laboratory rats, the following doses were tested: 1.0, 1.7, 2.3, 2.6, 2.8 and 3.0 mg/kg. The animals of the control group were injected with water.

The study of the cumulative properties of MA-17 and MA-23 was carried out on 50 female white rats according to the Lim method. The animals were divided into two groups, 25 animals each. The animals of the first group were injected with MA-17.

The animals of the second group were injected with MA-23. The initial dose was 0.1 of LD₅₀. Every 4 days this dose was increased by 1.5 times. The degree of cumulative action was expressed by the cumulation coefficient, which is the ratio of the total dose of a substance that causes the death of 50 % of experimental animals after multiple administration to the dose that causes the death of 50 % of animals after a single injection [6, 7].

To study the effect of MA-17 and MA-23 on rat blood hematological parameters, 4 groups of 2—3-month-old animals, five individuals each, were formed. The rats of the first group were intramuscularly injected with MA-23 at a dose of 1.7 mg/kg, the

rats of the second group were intramuscularly injected with MA-23 at a dose of 2 mg/kg, the rats of the third group were intramuscularly injected with MA-17 at a dose of 1.8 mg/kg. The rats of the control group were injected intramuscularly with water for injection in a volume of 0.1 ml. Animal blood was collected 15 minutes after administration of the compounds with the onset of an immobilizing effect. Hematological studies, including the number of erythrocytes, leukocytes, hemoglobin, were determined by the Mythic 18 Vet hematological analyzer.

The data of experimental studies were processed by the method of variation statistics. For this purpose, the application software STATISTICA was used. The work was carried out according to the practical guide for users [8]. The statistical significance of differences was determined by the Student's test.

STUDY RESULTS

Prior toxicological studies on laboratory animals are prerequisite for the use of new veterinary drugs.

There were no visible clinical changes in behavior and general condition of rats under 1.2 mg/kg of body weight of MA-17. When toxic doses were administered, clinical signs were characterized by anxiety, depression, rapid breathing, dyspnea and myofibrillation.

During the experiments, it was found that no visible clinical changes in behavior and general condition were observed under MA-23 at a dose of 1.7 mg/kg of body weight. The immobilizing effect of MA-23 was noted in animals 10—15 minutes after the administration of a dose of 1.9 mg/kg and lasted for 12—15 minutes. The pharmaceutical substance under the code name MA-23 proved to be the most effective, showing an immobilizing effect. In the animals treated with toxic doses of MA-23, depression, movement disorders, dyspnea and myofibrillation were observed. The death of all animals occurred 13—15 minutes after respiratory arrest.

The results of acute toxicity studies are presented in Table 1.

Analyzing the data presented in Table 1, it should be noted that MA-17 is the most toxic and mice are the most sensitive of laboratory rodents. Based on the LD₅₀ for laboratory rats from conducted studies, it can be concluded that, substances MA-17 and MA-23 belong to class 1 of toxicity and hazard in accordance with GOST 12.1.007—76 and the classification of I. V. Berezovskaya [9].

According to the classification of the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), MA-17 and MA-23 are highly toxic compounds [10].

Table 1*Acute toxicity parameters of MA-17 and MA-23 pharmaceutical substances*

Acute toxicity parameters, mg/kg of body weight				
LD ₀	LD ₁₆	LD ₅₀ with confidence intervals	LD ₈₄	LD ₁₀₀
MA-17				
Laboratory mice				
0,6	0.9	1.03 (0.91÷1.29)	1.36	1.4
Laboratory rats				
1,5	1.72	2.02 (1.79÷2.29)	2.36	2.6
MA-23				
Laboratory mice				
0,8	1.1	1.21 (1.06÷1.37)	1.41	1.5
Laboratory rats				
1,9	2.06	2.50 (2.15÷2.77)	2.87	3.0

As a result of studying the cumulative properties of MA-17, it was found that 50 % of animals died on day 10 of the experiment. The LD₅₀ after multiple administration of this compound over this period was 7.27 mg/kg, C_c was 3.6.

In the study of MA-23 cumulative properties, it was found that 50 % of animals died on day 20 of the experiment. The LD₅₀ after multiple administration of it over this period was 13.38 mg/kg, C_c was 5.4.

The results of studies of the cumulative properties of pharmaceutical substances MA-17 and MA-23 are presented in Table 2.

Analyzing the data presented in Table 2, it should be noted that the most toxic after multiple administra-

tion and the most cumulative is MA-17. According to the Guidelines for determining the toxic properties of drugs used in veterinary medicine, it allows to classify drugs as a group without cumulative properties if C_c > 1 [11]. According to the Guidelines for the study of the general toxic effect of pharmacological substances, it is a cumulation if C_c < 1, and it's an addiction if C_c > 1 [7].

A comprehensive assessment of acute toxicity and cumulative properties of MA-17 and MA-23 allowed them to be classified according to the degree of danger of toxic action.

Table 3 shows the data on the classification of MA-17 and MA-23 toxic effects.

Table 2*Cumulative properties of MA-17 and MA-23 pharmaceutical substances*

Substance name	LD ₅₀ with a single injection	Total dose of the LD ₅₀ after multiple administration	Cumulation coefficient, C _c
MA-17	2.02	7.27	3.6
MA-23	2.50	13.38	5.4

Analyzing the data presented in Table 3, it should be noted that, according to the classification of a hazard level of medicines and veterinary drugs toxic effect, cumulation coefficient and the dose level of the toxic

action, MA-17 belongs to highly hazardous, MA-23 belongs to moderately hazardous drugs. According to the therapeutic margin index, MA-17 and MA-23 belong to a highly hazardous group.

Table 3

Classification of a hazard level of MA-17 and MA-23 toxic actions

Hazard criterion	Hazard level		
	High	Moderate	Low
Cumulation coefficient	1...5	> 5...10	> 10
MA-17	3.6		
MA-23		5.4	
Dose level of toxic actions in the experiment	1 ED ₅₀	> 5 ED ₅₀	> 10 ED ₅₀
MA-17	+		
MA-23		+	
Therapeutic Margin Index (LD ₅₀ /therapeutic dose)	5...15	> 15...45	> 45
MA-17	1.1		
MA-23	1.5		

In accordance with the classification of a hazard level of drug toxic effect, cumulation coefficient, the MA-23 belongs to the moderately hazardous group [11, 12].

An important aspect of identifying the potential hazard of drugs for humans and farm animals is the study of hematological parameters. Drugs, getting into the blood, can cause a number of hematological changes, which may be accompanied by the absence of intoxication clinical manifestations [13]. Blood cell examination is an accessible, sensitive, informative method which can provide useful information for revealing the pathogenetic basis of intoxication. It is possible to detect changes at the level of cells and subcellular structures by studying the morphofunctional characteristics

of blood cells. It should also be taken into account that erythrocytes are actively involved in the transport and neutralization of toxic substances, and their membrane is a unique adsorbent [14].

In this regard, we studied the hematological parameters of the blood of rats after intramuscular injection of MA-17 and MA-23. Immobilizing effect in rats occurred 15 minutes after intramuscular administration of MA-23 at doses of 1.7 and 2 mg/kg of body weight. Immobilizing effect in rats also occurred 15 minutes after intramuscular administration of MA-17 at a dose of 1.8 mg/kg, but was simultaneously accompanied by convulsions.

The results of hematological studies after MA-17 and MA-23 injections are presented in Table 4.

Table 4

Hematological parameters of white rats after MA-17 and MA-23 administration ($M \pm m$)

Parameter	Unit of measurement	Control	MA-23		MA-17
			Dose, mg/kg of body weight		
			1.7	2.0	1.8
Erythrocytes	10 ¹² /L	8.75 ± 0.29	7.81 ± 0.30	7.68 ± 0.34*	6.25 ± 0.32**
Hemoglobin	g/L	132.6 ± 4.21	132.8 ± 4.33	142.6 ± 4.46	89.1 ± 0.24***
Leukocytes	10 ⁹ /L	6.12 ± 0.23	6.25 ± 0.27	6.37 ± 0.25	5.91 ± 0.28

* $p < 0.05$

** $p < 0.001$

*** $p = 0.00001$

Analyzing the data in Table 4, it should be noted that after intramuscular administration of the pharmaceutical substance MA-23 at a dose of 1.7 mg/kg, there were no significant differences in hematological parameters between the experimental and control groups of animals. The content of erythrocytes in the blood of white rats after administration of the compound MA-23 at a dose of 2.0 mg/kg of body weight was significantly lower than in the control group ($p < 0.05$).

The blood content of erythrocytes and hemoglobin in the rats of the experimental group after intramuscular injection of MA-17 at a dose of 1.8 mg/kg of body weight was significantly lower than in the control group ($p < 0.001$).

CONCLUSION

As a result of the experiments, it has been found that the substance MA-23 in terms of pharmacological and toxicological parameters is more effective and less toxic than MA-17. This distinction is probably due to the difference of space (part) between charged amino groups of molecules. Terephthalic acid is used as a part between charged amino groups of the dibasic acid molecule in MA-17 substance, and truxyl acid — in MA-23. These data allow to develop a direction for the synthesis of immobilizing pharmaceutical substances and recommend MA-23 as an active substance in the development of new compounds.

REFERENCES

1. Donaldson AC, Meyer LCR, Fuller A, Buss PE. Comparison of the cardiovascular effects of immobilization with three different drug combinations in free-ranging African lions. *Conserv Physiol.* 2023 Jan 12; 11(1): coac077. doi: 10.1093/conphys/coac077. PMID: 36655170; PMCID: PMC9835075.
2. A. V. Malaney, G. R. Yamalova, K. F. Khalikova [et al.] Study of the toxicity and efficacy of the M-3 preparation on white rats // Modern problems of experimental and clinical toxicology, pharmacology and ecology: Collection of Abstracts of the International Scientific and Practical Conference, Kazan, September 09—10, 2021. — Kazan: Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, 2021. — P. 227—229. — EDN MJPLUP.
3. Effect of peripheral relaxants “MA-6” and “MA-7” on clinical, hematological and biochemical parameters of white rats / K. F. Khalikova, G. R. Yamalova, A. V. Malaney [et al.] // *Uchenye zapiski Kazanskoy gosudarstvennoy akademii veterinarnoy meditsiny im. N. E. Baumana* (Transactions of Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman). — 2022. — V. 251, No. 3. — P. 283—288. — DOI 10.31588/2413_4201_1883_3_251_283. — EDN CXSONV.
4. GOST 33216—2014 Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for the maintenance and care of laboratory rodents and rabbits. — M.: Standartinform, 2016. — 16 p.
5. Belenkiy M. B. Elements of quantitative assessment of the pharmacological effect. — L.: Medgiz; 1963.
6. Guidelines for determining the toxic properties of drugs used in veterinary medicine and animal husbandry (extract from regulatory and methodological documents, approved by the Ministry of Health of the USSR, VASKhNIL, GUV Gosagroprom USSR) // Directory “Veterinary drugs”. M.: VO Agropromizdat, 1988. — p. 239—289.
7. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part one / Ed. by A. N. Mironov. M.: Grif and K, 2012. — 944 p.
8. Solntseva O. V., Sevastyanov A. V. Analysis of statistical data in the STATISTICA package. A practical guide for users. — Ulyanovsk, GSKhA, 2004—43p.
9. Berezovskaya I. V. Classification of chemicals according to the parameters of acute toxicity in case of parenteral routes of administration / I. V. Berezovskaya. // *Khim. — farm. Zhurnal* (Chem.-pharm. journal). — 2003. — v. 37. — No. 3. — p. 32—34.
10. Technical Code of Practice 125—2008 (02040) “Good Laboratory Practice”, approved by the Decree of the Ministry of Health of the Republic of Belarus dtd. March 28, 2008 No. 56. p.28
11. Berezovskaya I. V. Forecast of drug safety in pre-clinical toxicological studies / I. V. Berezovskaya // *Toxikologicheskiy vestnik: nauch. — prakt. zhurnal* (Toxicological Bulletin: scientific-practical journal). — 2010. — No. 5. — P. 17—22.
12. Rakhmatullin E. K. Study of the toxicity of veterinary drugs at the preclinical stage / E. K. Rakhmatullin, O. D. Sklyarov // *Vestnik rossiyskoy selskokhozyaystvennoy nauki* (Bulletin of Russian agricultural science). 2019. No. 5. P. 61—64.
13. Mintzer DM, Billet SN, Chmielewski L. Drug-induced hematologic syndromes. *Adv Hematol.* 2009;2009:495863. doi: 10.1155/2009/495863. Epub 2009 Jul 7. PMID: 19960059; PMCID: PMC2778502.
14. Methods of veterinary clinical laboratory diagnostics: Handbook / Ed. by prof. I. P. Kondrakhin // I. P. Kondrakhin, A. V. Arkhipov, V. I. Levchenko, G. A. Talanov, L. A. Frolova, V. E. Novikov — M.: KolosS. —2004. — P. 88.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

E. K. Rakhmatullin — Doctor of Veterinary Sciences, Principal Scientific Associate;

N. M. Vasilevskiy — Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate;

I. I. Idiyatov — Candidate of Biological Sciences, Principal Scientific Associate;

A. V. Malanov — Candidate of Biological Sciences, Senior Scientific Associate;

G. R. Yamalova — Junior Scientific Associate;

K. F. Khalikova — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Scientific Associate;

M. S. Chakimov — Candidate of Chemical Sciences, Scientific Associate.

The article was submitted 01.06.2023.

Научная статья

УДК 619:615.356):616.3

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2023.3.30

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ И ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ СЕЛЕФЛАНА НА ФОНЕ РАЗВИТИЯ ОСТРОГО МОДЕЛЬНОГО ГЕПАТИТА У ПТИЦ

Марина Петровна Семененко[✉], Евгения Викторовна Рогалева,
Андрей Андреевич Абрамов, Елена Васильевна Кузьминова, Владимир Анатольевич Гринь

Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии, Краснодар, Россия, sever291@mail.ru[✉]

Аннотация. Статья посвящена изучению гепатопротекторной активности селефлана на фоне модельного воспроизведения на птице острого токсического гепатита с целью выявления взаимосвязи между возникающими патологическими процессами и эффективностью фармакотерапии в нивелировании симптоматики токсикоза, восстановлении макро- и микроструктуры клеток печени, а также ростовых показателей и сохранности цыплят-бройлеров. Назначение селефлана в дозе 3 % от сухого вещества кормового рациона на протяжении 14 дней постинтоксикационного периода способствует улучшению клинико-физиологического состояния опытной птицы, сохранности — до 93,3 %, среднесуточного прироста — на 9,9 %, а также гистологической структуры печени.

Ключевые слова: селефлан, гепатопротектор, клинический статус, среднесуточный прирост, цыплята-бройлеры

В приоритете комплекса задач современного бройлерного птицеводства на передовые рубежи выходит разведение и содержание высокопродуктивной птицы с высокими продуктивными показателями при сопоставимых затратах и получение экономического дохода отрасли на базе новейших технологий и их внедрения в отрасль. Однако такая интенсивная система выращивания птицы зачастую способствует развитию стрессовых реакций и как следствие — возникновению дисбаланса обменных процессов, обуславливающих повышенную чувствительность организма птиц к различным патологиям и в первую очередь — печени [1—3].

Печень (hepar) — как центральный орган процесса метаболизма, синтеза и обмена ряда гормонов, витаминов, ферментов и микроэлементов, нейтрализации эндогенных и экзогенных токсинов, часто не выдерживает повышенной функциональной нагрузки, вследствие чего развиваются дистрофические процессы морфологических структур печени [4—6].

Современные гепатопротекторы, находящие в фармакотерапии активное применение в коррекции гепатопатий, действуют в организме как

детоксиканты, активные сорбенты или способствуют восстановлению морфофункциональных показателей клеток печени, уменьшая функциональную нагрузку на органы гепатобилиарной системы [7—8, 10].

Решение проблемы нормализации обменных процессов в организме и морфофункционального состояния печени с использованием гепатотропных препаратов представляется важным резервом повышения эффективности ведения птицеводства и производства птицеводческой продукции, что настоятельно требует совершенствования методов ранней диагностики нарушений функций печени, расширения арсенала и разработки рациональных способов использования в птицеводстве гепатотропных и других биологически активных веществ [2, 7—8].

Арсенал лекарственных средств, обладающих гепатопротекторным потенциалом при гепатопатиях различной этиологии, довольно широк и включает как лекарственные формы природного происхождения, так и синтетические фармакологические средства. Однако существующий ряд ограничений, свойственных многим препаратам, делает пробле-

му поиска потенциально эффективных новых фармакологических веществ, воздействующих на молекулярные и клеточные мишени, чрезвычайно актуальной [2, 9].

Цель исследования — изучить гепатопротекторное действие селефлана — комплексного препарата, разработанного в отделе фармакологии Краснодарского НИВИ на модели острого экспериментального (токсического) гепатита на основе динамики клинической картины интоксикации, комплексного исследования макро- и микроструктуры печени, ростовых показателей и сохранности цыплят-бройлеров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Методология исследований соответствовала регламентам по доклиническим исследованиям («Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» и «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств») [5, 10].

Объект исследования — комплексный препарат селефлан (*Selephlanum*), разработанный на основе кристаллической решетки бентонита Кантемировского месторождения, в структуру которой были введены натрия тиосульфат, селенсодержащий компонент, а также растительная субстанция — трава солянки холмовой. Фармакодинамика препарата направлена на уменьшение метаболического влияния на печень, восстановление функциональной активности и гистоструктуры гепатоцитов, детоксикацию и адсорбцию токсинов различного происхождения, а также повышение сохранности и продуктивности. С целью установления корреляционных связей между клиническими симптомами, гистологическими изменениями структуры печени, сохранностью и ростовыми показателями птицы при токсическом поражении печени, был проведен опыт на 30 цыплятах-бройлерах 17-дневного возраста с начальной массой тела 479,5 + 6,52 г.

Модельный опыт острого экспериментального поражения печени воспроизводился путем однократного введения птице тетрахлорметана в дозе 5 мл/кг в форме 50 % раствора в оливковом масле посредством его внутрижелудочного введения через ротовую полость с помощью зонда (глубина введения 3,5—4,0 см).

Согласно дальнейшему алгоритму модельной системы *in vivo*, цыплята были разделены на две группы (опытную и контрольную, $n = 15$). Птице опытной группы ежедневно на протяжении 14 дней

скармливался селефлан из расчета 3 % от сухого вещества кормового рациона, цыплята контрольной группы на фоне поражения печени CCl_4 фармако-терапию не получали.

Содержание и кормление бройлеров обеих групп соответствовало основным зоотехническим требованиям (напольное содержание; основной рацион — кормосмесь «Рост», регламентированная согласно возрасту по белку, углеводам и жирам, витаминам, аминокислотам и макро- и микроэлементам).

С момента введения токсодозы тест-объекта, и далее, на протяжении всего наблюдательного периода у птицы регистрировалась динамика клинических изменений (подвижность, состояние перьевого покрова и видимых слизистых оболочек, функциональность органов мочевого выделения и пищеварения), гравиметрические показатели, сохранность, а также степень выраженности токсикоза.

Для оценки влияния селефлана на макро- и микроструктуру печени цыплят на 14 сутки экспериментального периода был проведен контрольный убой и вскрытие павшей птицы, отбор проб для патоморфологического и гистологического исследования (в соответствии с «Морфологическим исследованиям в ветеринарных лабораториях» (2008). Фотографирование готовых гистологических препаратов осуществлялось при увеличении 100 и 400 с использованием микроскопа МС 300 (Австрия) со специализированным программным обеспечением регистрации изображения цифровой камерой Leica.

Гравиметрическое определение массы тела птицы выполнялось при постановке опыта и по его окончанию. Ежедневно проводился контроль сохранности и падежа птицепоголовья, при этом сохранность рассчитывалась в процентах от начального поголовья за весь период в целом. Масса тела определялась путем индивидуального взвешивания, среднесуточный прирост массы тела — расчетным путем.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установлено, что экспериментальное поражение печени ядом-прооксидантом у цыплят-бройлеров вызвало развитие симптомокомплекса, проявляемого угнетением, пониженной реакцией на внешние раздражители, сужением глазной щели, взъерошенностью перьевого покрова, бледностью и увеличением гребня и сережек, учащенным сердцебиением, частым поверхностным дыханием и диареей.

Фармакотерапия селефланом в значительной степени способствовала уменьшению негативного влияния четыреххлористого углерода у цыплят опытной группы. Со второго дня эксперимента была отмечена лучшая поедаемость корма, повышение двигательной активности, выраженная устойчивость нижних конечностей. С 4—5 дня наступало нивелирование симптоматики интоксикации, а к 8—10-му дню исследования выздоровело до 86,7 % цыплят. Сохранность по группе составила 93,3 % (рис. 1).

Улучшение состояния птицы опытной группы подтверждалось положительной тенденцией среднесуточного прироста массы тела. На заключительной стадии опыта среднесуточный прирост массы тела бройлеров этой группы превышал показатели группы контроля на 9,9 %, межгрупповые различия по данному показателю у птицы, получавшей селефлан, и контролем достоверно ($p \leq 0,05$) составили 5,9 %.

В контрольной группе симптоматика, сопровождающая острое токсическое поражение печени, наблюдалась на протяжении всего периода исследований, цыплята сопоставимо с опытной птицей отставали в росте и развитии. К 8—13 дню эксперимента у 66,7 % птицы выявлялось значитель-

ное снижение аппетита или полное его отсутствие. Цыплята падали на конечности, слабо реагировали на внешние раздражители. К концу опыта был выявлен падеж 7 особей, в ходе вскрытия которых регистрировались следующие изменения: наличие темно-желтого транссудата в брюшной полости, увеличение размеров печени и неоднородность ее цвета (перемежающиеся участки серого и глинисто-коричневого цвета), рыхлость консистенции, переполненность желчного пузыря желчью желто-зеленого цвета.

При гистологическом исследовании срезов ткани печени опытных цыплят, проведенном на 15 день эксперимента, признаков, характерных для токсической патологии, вызываемой ядом-проксидантом, выявлено не было. Балочная структура ткани органа и триады в дольках хорошо просматривались, гепатоциты имели правильную форму с однородно окрашенными ядрами, альтеративные и воспалительные повреждения отсутствовали (рис. 2).

В венозном русле просматривались клетки крови (макрофаги и единичные эозинофилы); не выраженная инфильтрация, обусловленная лимфоцитами с некоторым количеством нейтрофилов (рис. 3).



Рис. 1. Динамика массы тела и сохранность цыплят-бройлеров на фоне экспериментального поражения печени ($M \pm m$; $n = 15$)

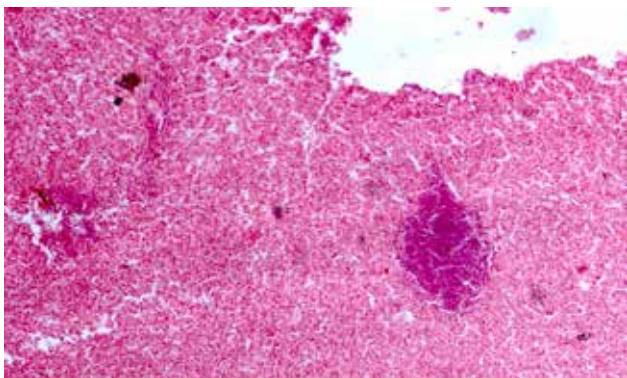


Рис. 2. Клетки печени (опыт), окраска гематоксилин-эозином, объектив 10х; окуляр 10х

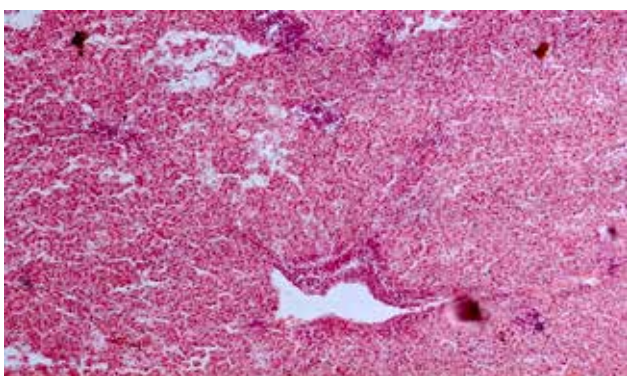


Рис. 3. Венозное русло с макрофагами (опыт), окраска гематоксилин-эозином, объектив 10х; окуляр 10х

При гистологическом исследовании птицы контрольной группы выявлялся лизис клеток и структурные нарушения печеночных долек с невыраженным радиальным расположением печеночных балок, очаги некроза, включения и зерна, характеризующие развитие зернистой дистрофии (рис. 4, 5).

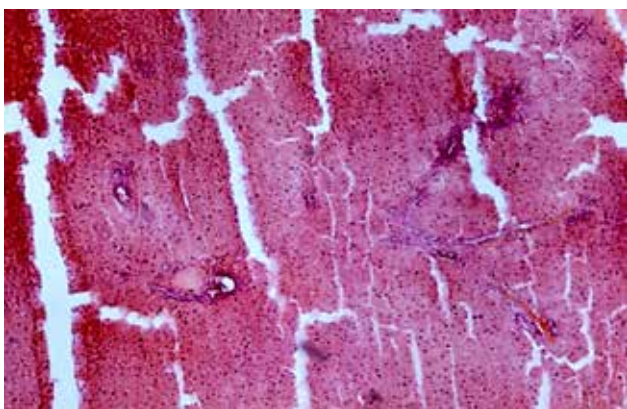


Рис. 4. Лизис клеток печени (контроль), окраска гематоксилином и эозином, объектив 10х; окуляр 10х

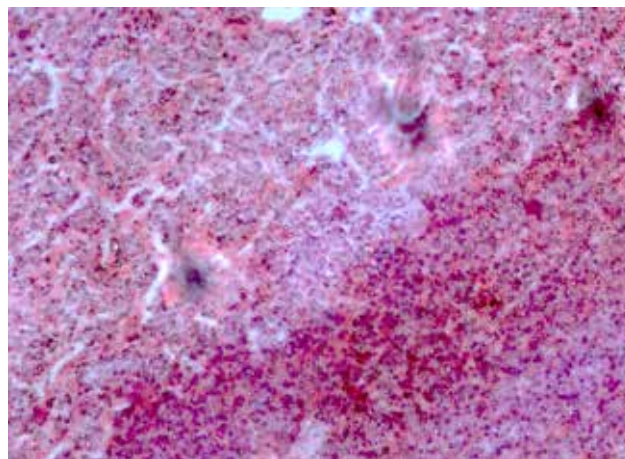


Рис. 5. Зернистая дистрофия печени (контроль), окраска гематоксилин-эозином, объектив 10х; окуляр 10х

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, экспериментально установлено, что назначение селефлана опытным цыплятам-бройлерам снижает функциональную нагрузку на печень, нивелирует развитие клинической картины токсикоза, вызванного введением четыреххлористого углерода, что в сравнительном аспекте с контрольной птицей способствует достоверному повышению показателей средней массы и среднесуточного прироста, а также улучшает состояние макро- и микроструктуры печени.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Васильев Э. В.* Перспективы и экологические проблемы развития птицеводства в России / Э. В. Васильев, Е. В. Шалавина // Технологии и технические средства механизированного производства продукции растениеводства и животноводства. — 2017. — № 92. — С. 173—185.
2. *Кузьмина Е. В.* Перспективы расширения спектра применения гепатопротекторов в ветеринарии / Е. В. Кузьмина, М. П. Семенов, Е. А. Старикова и др. // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. — 2014; 102:787—797.
3. *Маринченко Т. Е.* Состояние и тенденции отрасли птицеводства в России / Т. Е. Маринченко // Инновационное обеспечение яичного и мясного птицеводства России; Материалы XVIII Международной конференции всемирной научной ассоциации по птицеводству, НП «Научный центр по птицеводству». Сергиев Посад, 2015. — С. 551—553.
4. *Гринь В. А.* Корреляционная зависимость селенодефицита в патогенезе заболеваний печени / В. А. Гринь, Е. В. Рогалева, М. П. Семенов, Е. В. Кузьмина,

А. Г. Кошаев // Труды Кубанского государственного аграрного университета. — 2021. — № 88. — С. 135—140.

5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под ред. А. Н. Миронова / Часть первая. — М.: Гриф и К, 2012. — 944 с.

6. *Семенов М. П.* Этиопатогенез и особенности гепатотропной терапии коров при гепатозах / М. П. Семенов, Е. В. Кузьминова, Е. В. Тяпкина, Ф. Д. Онищук // Ветеринария. — 2016. — № 4. — С. 42—46.

7. *Губич О. И.* Сравнительная оценка гепатопротекторных свойств растительных адаптогенов на экспериментальной модели хронического алкогольного поражения печени *in vivo* / О. И. Губич, Я. Ю. Дашкова, И. Н. Кривленя // Журнал Белорусского государственного университета. Биология. — 2019. — № 1. — С. 54—62.

8. *Доркина Е. Г.* Гепатопротекторные свойства флавоноидов (фармакодинамика и перспективы клиниче-

ского изучения): автореферат дис. ... д-ра биол. наук / Е. Г. Доркина. — Волгогр. гос. мед. ун-т., Волгоград, 2010.

9. *Семенов М. П.* Современный подход к возможностям применения природных сорбентов в ветеринарии / М. П. Семенов // В сборнике: Актуальные проблемы современной ветеринарной науки и практики. Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию Краснодарского научно-исследовательского ветеринарного института. ФГБНУ «Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт»; ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет». — 2016. — С. 95—97.

10. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. *Р. У. Хабриева*. — М. — ОАО Издательство «Медицина», 2005. — 832 с.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

М. П. Семенов — доктор ветеринарных наук, доцент, заведующая отделом фармакологии;

Е. В. Роголева — доктор ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела фармакологии;

А. А. Абрамов — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела фармакологии;

Е. В. Кузьминова — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник отдела фармакологии;

В. А. Гринь — доктор ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела фармакологии.

Статья поступила в редакцию 01.08.2023 г.

METABOLIC AND PATHOMORPHOLOGICAL ASPECTS OF THE HEPATOPROTECTIVE ACTIVITY OF SELEPHLAN AGAINST THE BACKGROUND OF THE DEVELOPMENT OF ACUTE MODEL HEPATITIS IN POULTRY

Marina Petrovna Semenenko[✉], Evgeniya Viktorovna Rogaleva, Andrey Andreevich Abramov,
Elena Vasilyevna Kuzminova, Vladimir Anatolyevich Grin

*Krasnodar Research Center for Animal Husbandry and Veterinary Medicine,
Krasnodar, Russia, sever291@mail.ru[✉]*

Abstract. The article is dedicated to the study of the hepatoprotective activity of selephlan against the background of model reproduction of acute toxic hepatitis on the poultry in order to identify the relationship between the emerging pathological processes and the efficacy of pharmacotherapy in the leveling of toxicosis symptoms, the restoration of macro- and microstructure of the liver cells, as well as growth indicators and livability of broilers. The use of selephlan at a dose of 3 % of the dry substance of the feed diet for 14 days of the post-toxic period helps to improve the clinical and physiological condition of the experimental poultry, livability — up to 93.3 %, the average daily growth — by 9.9 %, as well as the histological structure of the liver.

Keywords: selephlan, hepatoprotector, clinical status, average daily growth, broiler chickens

The priority of the set of tasks of modern broiler poultry farming is the breeding and keeping high yielding poultry with high productive indicators at comparable costs and obtaining economic income for the industry based on the latest technologies and their implementation in the industry.

However, such an intensive poultry rearing system often contributes to the development of stress reactions and, as a result, to the occurrence of an imbalance in metabolic processes, which cause increased sensitivity of the poultry organism to various pathologies, and primarily to the liver [1—3].

Liver (hepar) — as the central organ of the process of metabolism, synthesis and exchange of a number of hormones, vitamins, enzymes and microelements, neutralization of endogenous and exogenous toxins, often does not withstand increased functional load, as a result of which dystrophic processes of morphological structures of the liver develop [4—6].

Modern hepatoprotectors, which are actively used in pharmacotherapy in the correction of hepatopathologies, act in the body as detoxifiers, active sorbents, or help restore the morphological and functional indicators of liver cells, reducing the functional load on the organs of the hepatobiliary system [7—8, 10].

Solving the problem of normalizing metabolic processes in the body and the morphofunctional state of the liver using hepatotropic drugs seems to be an important reserve for improving the efficacy of poultry farming and the production of poultry products, which urgently requires the improvement of methods for the early diagnosis of liver dysfunctions, the expansion of the arsenal and the development of rational methods for the use of hepatotropic and other biologically active substances in poultry farming [2, 7—8].

The arsenal of drugs with hepatoprotective potential in case of hepatopathy of various etiologies is quite wide and includes both dosage forms of natural origin and synthetic pharmacological agents. However, the existing number of limitations typical of many drugs makes the problem of finding potentially effective new pharmacological substances that act on molecular and cellular targets extremely relevant [2, 9].

The objective of the research was to study the hepatoprotective effect of selephlan, a complex drug designed at the Department of Pharmacology of Krasnodar NIVI on the model of acute experimental (toxic) hepatitis based on the dynamics of the clinical picture of intoxication, a comprehensive study of the macro- and microstructure of the liver, growth indicators and the livability of broiler chickens.

MATERIAL AND METHODS

The research methodology complied with the regulations for preclinical studies (Guidelines for the Experimental (Preclinical) Study of New Pharmacological Substances and Guidelines for Conducting Preclinical Studies of Drugs) [5, 11].

The object of the study is the complex drug Selephlan (*Selephlanum*), designed on the basis of the crystal lattice of bentonite from Kantemirovskoye deposit, into the structure of which sodium thiosulfate, a selenium-containing component, and also a plant substance (saltwort), were introduced. The pharmacodynamics of the drug is aimed at reducing the metabolic effect on the liver, restoring the functional activity and histostructure of hepatocytes, detoxification and adsorption of toxins of various origins, as well as increasing livability and productivity.

In order to establish correlations between clinical symptoms, histological changes in the structure of the liver, livability and growth indicators of poultry with toxic liver damage, there was conducted an experiment on 30 17-day-old broiler chickens with an initial body weight of 479.5 ± 6.52 .

The model experiment of acute experimental liver damage was reproduced by a single injection of carbon tetrachloride at a dose of 5 ml/kg in the form of a 50 % solution in olive oil to the poultry with an intragastric administration through the oral cavity using a probe (introduction depth 3.5—4.0 cm).

According to the further algorithm of the *in vivo* model system, the chickens were divided into two groups (experimental and control, $n = 15$). The poultry of the experimental group were fed daily for 14 days with selephlan at the rate of 3 % of the dry matter of the feed ration, the chickens of the control group did not receive CCl_4 pharmacotherapy against the background of liver damage. The keeping and feeding of broilers of both groups corresponded to the basic zootechnical requirements (outdoor keeping; the main diet is Rost feed mixture, regulated according to age for protein, carbohydrates and fats, vitamins, amino acids and macro- and micro-elements).

From the moment of introduction of the toxodose of the test object, and further, throughout the entire observation period, the dynamics of clinical changes (mobility, the state of the feather cover and visible mucous membranes, the functionality of the urinary and digestive organs), gravimetric indicators, livability, and also the severity of toxicosis.

To assess the effect of selephlan on the macro- and microstructures of the liver of chickens, on day 14 of the experimental period, a control slaughter and an au-

topsy of the dead poultry, sampling for pathomorphological and histological studies were carried out (in accordance with the Morphological Studies in Veterinary Laboratories (2008). Photographing of finished histological specimens was carried out at magnifications of 100 and 400 using an MS300 microscope (Austria) with specialized software for image registration with a Leica digital camera.

The gravimetric determination of the poultry's body weight was carried out during the experiment and at the end of it. The livability and mortality of the poultry population was monitored daily, while the livability was calculated as a percentage of the initial population for the entire period as a whole. Body weight was determined by individual weighing, the average daily weight gain was calculated.

STUDY RESULTS

It has been established that experimental damage to the liver by a prooxidant poison in broiler chickens caused the development of a symptom complex manifested by depression, decreased response to external stimuli, narrowing of the palpebral fissure, ruffled feather cover, pallor and an increase in the crest and gill, rapid heartbeat, frequent shallow breathing and diarrhea.

Selephlan pharmacotherapy significantly contributed to the reduction of the negative effect of carbon tetrachloride in the chickens of the experimental group. From the second day of the experiment, better food intake, increased motor activity and pronounced stability of the lower extremities were noted. From days 4—5, the symptoms of intoxication began to level out, and by days 8—10 of the study, up to 86.7 % of the chickens recovered. The livability in the group was 93.3 % (Fig. 1).

Improvement in the condition of the poultry of the experimental group was confirmed by a positive trend in the average daily weight gain. At the final stage of the experiment, the average daily weight gain of the broilers in this group exceeded the control group by 9.9 %, the intergroup differences in this indicator in the poultry treated with selephlan and in the control one significantly ($p \leq 0.05$) amounted to 5.9 %.

In the control group, the symptoms accompanying acute toxic liver damage were observed throughout the entire period of the study, the chickens lagged behind in growth and development, comparable to the experimental poultry. By days 8—13 of the experiment, 66.7 % of the poultry showed a significant decrease in appetite or its complete absence. The chickens fell on their limbs and reacted poorly to external

stimuli. By the end of the experiment, loss of 7 individuals was detected, during the autopsy of which the following changes were recorded: the presence of a dark yellow transudate in the abdominal cavity, an increase in the size of the liver and heterogeneity of its color (alternating areas of gray and clay-brown color), friability of the consistency, overcrowding of the gallbladder with yellow-green bile.

Histological examination of liver tissue sections of experimental chickens, carried out on day 15 of the experiment, did not reveal any signs typical of toxic pathology caused by the prooxidant poison. The tubule structure of the organ tissue and the triad in the lobules was clearly visible, hepatocytes had a regular shape with uniformly stained nuclei, and there were no alternative and inflammatory lesions (Fig. 2).

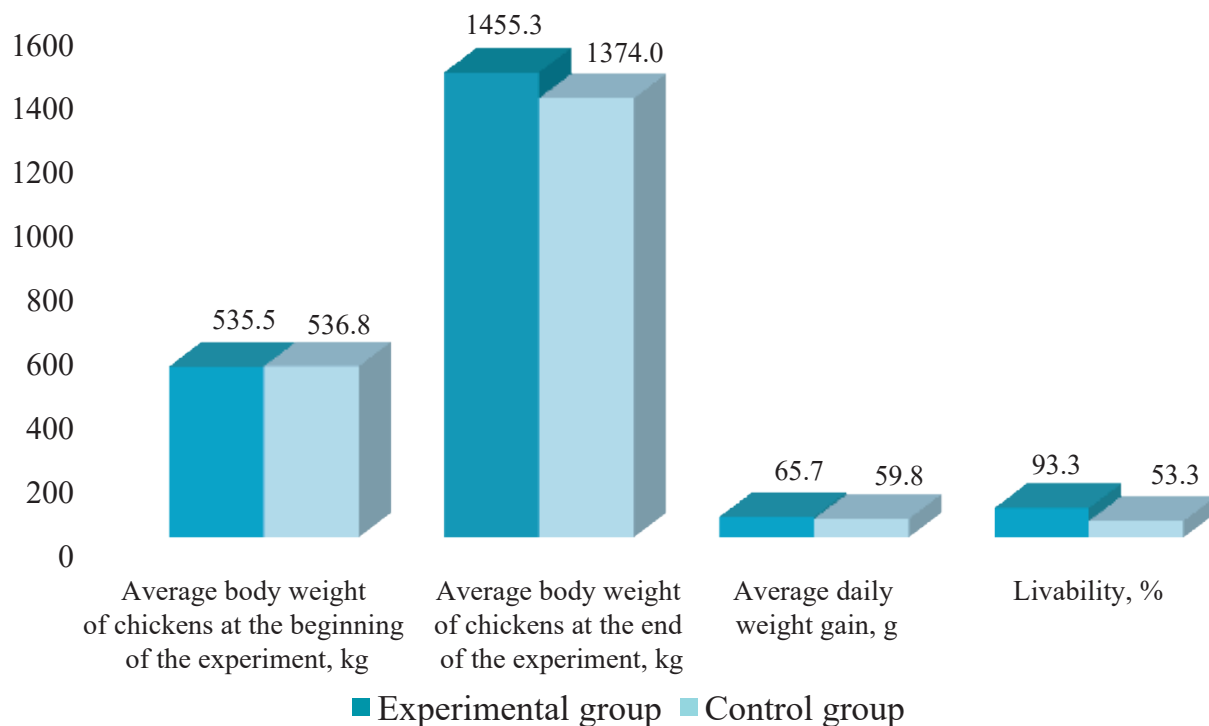


Fig. 1. Dynamics of body weight and livability of broiler chickens against the background of experimental liver damage ($M \pm m$; $n = 15$)

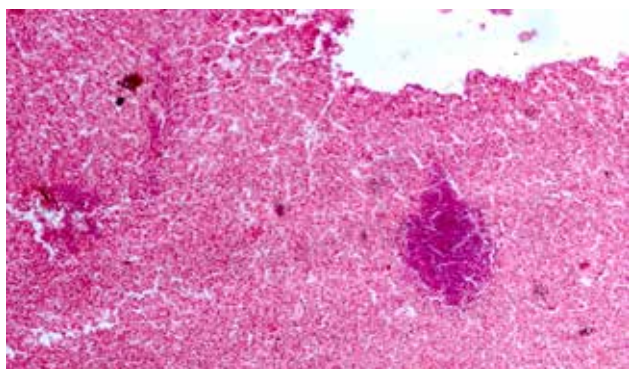


Fig. 2. Liver cells (experiment), hematoxylin-eosin staining, lens 10x; ocular lens 10x

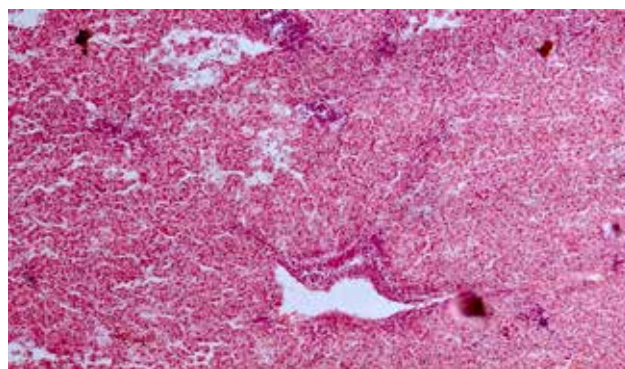


Fig. 3. Venous bed with macrophages (experiment), stained with hematoxylin-eosin, lens 10x; ocular lens 10x

Blood cells (macrophages and single eosinophils) were seen in the venous bed; not pronounced infiltration caused by lymphocytes with a certain number of neutrophils (Fig. 3).

Histological examination of the poultry of the control group revealed cell lysis and structural disorders of the hepatic lobules with an unexpressed radial ar-

rangement of the hepatic tubules, foci of necrosis, inclusions and grains characterizing the development of granular dystrophy (Fig. 4, 5).

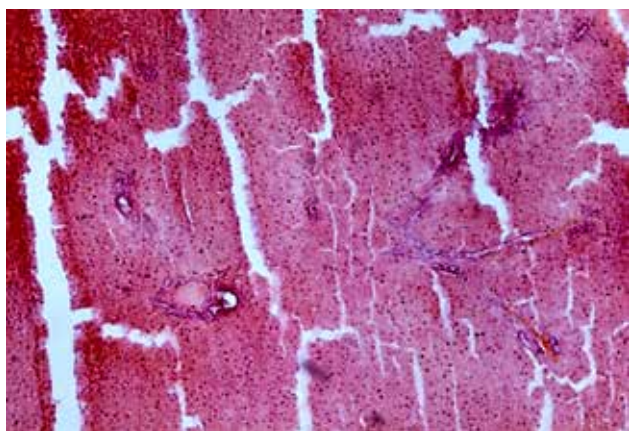


Fig. 4. Lysis of liver cells (control), hematoxylin-eosin staining, lens 10x; ocular lens 10x

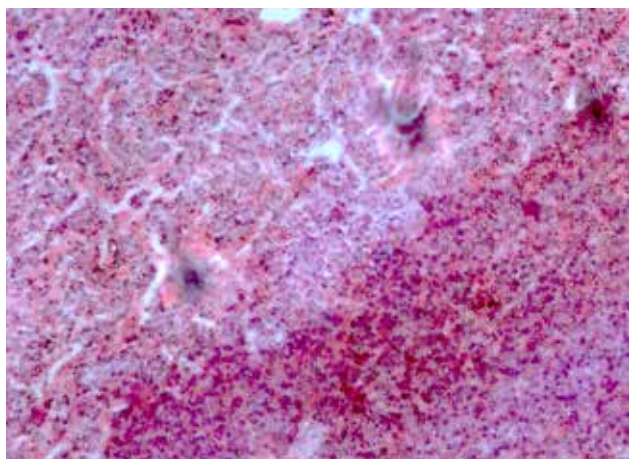


Fig. 5. Granular dystrophy of the liver (control), hematoxylin-eosin staining, lens 10x; ocular lens 10x

CONCLUSION

Thus, it has been experimentally established that the administration of selephlan to experimental broiler chickens reduces the functional load on the liver, levels the development of the clinical picture of toxicosis caused by the introduction of carbon tetrachloride, which, in a comparative aspect with the control poultry, contributes to a significant increase in the average weight and average daily weight gain and also improves the condition of the macro- and microstructure of the liver.

REFERENCES

1. *Vasilyev E. V.* Prospects and environmental problems of the poultry farming development in Russia / E. V. Vasi-

lyev, E. V. Shalavina // Technologies and technical means of mechanized production of crop and livestock products. — 2017. — No. 92. — P. 173—185.

2. *Kuzminova E. V.* Prospects for expanding the range of application of hepatoprotectors in veterinary medicine / E. V. Kuzminova, M. P. Semenenko, E. A. Starikova et al. // Politematicheskii setevoy elektronnyy nauchnyy zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Polythematic Network Electronic Scientific Journal of Kuban State Agrarian University). — 2014; 102:787—797.

3. *Marinchenko T. E.* Status and trends of the poultry industry in Russia / T. E. Marinchenko // Innovative provision of egg and meat poultry in Russia; Proceedings of the XVIII International Conference of the World Scientific Association for Poultry, NP “Scientific Center for Poultry”. Sergiev Posad, 2015. — P. 551—553.

4. *Grin V. A.* Correlation dependence of selenium deficiency in the pathogenesis of liver diseases / V. A. Grin, E. V. Rogaleva, M. P. Semenenko, E. V. Kuzminova, A. G. Koschaev // Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Proceedings of Kuban State Agrarian University). — 2021. — No. 88. — P. 135—140.

5. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs / Ed. by A. N. Mironov / Part one. — M.: Grif and K, 2012. — 944 p.

6. *Semenenko M. P.* Etiopathogenesis and features of hepatotropic therapy of cows with hepatoses / M. P. Semenenko, E. V. Kuzminova, E. V. Tyapkina, F. D. Onischuk // Veterinariya (Veterinary medicine). — 2016. — No. 4. — P. 42—46.

7. *Gubich O. I.* Comparative evaluation of hepatoprotective properties of herbal adaptogens on an experimental model of chronic alcoholic liver damage in vivo / O. I. Gubich, Ya. Yu. Dashkova, I. N. Krivlenya // Zhurnal Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya (Journal of Belarusian State University. Biology). — 2019. — No. 1. — P. 54—62.

8. *Dorkina E. G.* Hepatoprotective properties of flavonoids (pharmacodynamics and prospects for clinical study): Abstract of a thesis. ... Doc. of Biol. Sciences / E. G. Dorkina. — Volgogr. gos. med. un-t. (Volgograd. State Med. Unity), Volgograd, 2010.

9. *Semenenko M. P.* Modern approach to the possibilities of using natural sorbents in veterinary medicine / M. P. Semenenko // In the collection of papers: Actual problems of modern veterinary science and practice. Proceedings of the International Scientific and Practical Conference dedicated to the 70th anniversary of Krasnodar Research Veterinary Institute. FSBSI “Krasnodar Research Veterinary Institute”; FSBEI HPE “Kuban State Agrarian University”. — 2016. — P. 95—97.

10. Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances / Ed. by R. U. Khabriev. — M. — OJSC Publishing House “Meditsina”, 2005. — 832 p.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

M. P. Semenenko — Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Pharmacology;

E. V. Rogaleva — Doctor of Veterinary Sciences, Principal Scientific Associate of the Department of Pharmacology;

A. A. Abramov — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Scientific Associate of the Department of Pharmacology;

E. V. Kuzminova — Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Chief Scientific Associate of the Department of Pharmacology;

V. A. Grin — Doctor of Veterinary Sciences, Senior Scientific Associate of the Department of Pharmacology.

The article was submitted 01.08.2023.

**МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СТАТУС БРОЙЛЕРОВ
РОДИТЕЛЬСКОГО СТАДА, ИНКУБАЦИОННЫЕ КАЧЕСТВА
ЯИЦ И РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЦЫПЛЯТ, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ НИХ
В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ ПРОДУКТИВНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ**

**Вячеслав Иванович Котарев, Людмила Викторовна Лядова,
Лариса Ивановна Денисенко, Надежда Николаевна Иванова[✉],
Галина Германовна Чусова**

*Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии,
фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, nadiv84@list.ru[✉]*

Аннотация. В статье представлены материалы по изучению метаболического статуса бройлеров родительского стада кросса Кобб 500 в различные периоды продуктивного использования. Определены показатели качества инкубационных яиц, биохимические и иммунологические показатели крови суточных цыплят, полученных от бройлеров родительского стада на 32 (I группа) и 58 неделе (II группа) продуктивного использования. На 58 неделе выращивания птицы в крови отмечали достоверное увеличение, общего белка на 30,9 % ($p < 0,001$); холестерина на 73,9 % ($p < 0,001$); кальция на 6,3 % ($p < 0,05$) относительно аналогичных показателей у птицы I группы. Биохимический анализ белка и желтка яиц показал, что во второй возрастной группе сумма каротиноидов была выше на 29,9 % ($p < 0,001$); концентрация витамина E и B2 ниже на 33,5 % ($p < 0,001$) и 20,0 % ($p < 0,001$), соответственно. Содержание иммуноглобулинов в желтке и белке яиц, полученных от бройлеров второй возрастной группы, было ниже на 9,4 % ($p < 0,01$) и 7,5 % ($p < 0,01$), соответственно. Отмечали более низкое содержание в сыворотке крови суточных цыплят, полученных от птицы на 58 неделе продуктивного использования, общего белка — на 6,6 % ($p < 0,01$), кальция — на 29,4 % ($p < 0,001$) и фосфора — на 12,5 % ($p < 0,001$) относительно аналогичных показателей первой исследуемой группы. При более длительном периоде продуктивного использования птицы отмечено увеличение концентрации биологически активных веществ в яйце, что создает оптимальные условия развития эмбриона и получение жизнеспособных цыплят, однако, отмечено снижение иммунологических показателей, что может привести к нарушению развития эмбрионов, росту эмбриональной смертности и выводу некондиционного молодняка. Цыплята от кур старшего возраста имеют больший потенциал роста, но и более высокие риски нарушения обмена веществ.

Ключевые слова: куры родительского стада, метаболический статус, резистентность, жизнеспособность цыплят

Выводимость и дальнейшая продуктивность цыплят-бройлеров в значительной степени зависят от качества инкубационных яиц родительского стада. Одним из факторов, влияющих на их качество, является возраст и здоровье птицы родительского стада бройлеров [1—3].

Отход взрослой птицы и молодняка находится под постоянным контролем ветеринарного персонала хозяйств, чего, к сожалению, нельзя сказать о гибнущих эмбрионах. Нарушения в разви-

тии эмбрионов приводят не только к их гибели, но и к значительному увеличению процента слабого, некондиционного молодняка. Кроме того, понижается и жизнеспособность внешне здоровых особей.

Птица, переболевшая в эмбриональный период, хуже растет и развивается, часто не в состоянии реализовать в дальнейшем хорошую мясную и яичную продуктивность [4].

Причины возникновения эмбриональной смертности заключаются не только в нарушениях режи-

ма инкубации, но часто обусловлены низким качеством инкубационных яиц, что является следствием неполноценного кормления, нарушения других элементов технологии, а также болезнями репродуктивных органов, общими неинфекционными и инфекционными заболеваниями птиц [2, 5—8].

Поиску оптимальных параметров отбора яиц для инкубации посвящено большое количество исследований [1, 2, 4, 6]. При этом изучается роль различных факторов, влияющих на морфологические и биохимические показатели яиц и крови цыплят.

Важным является изучение влияния антиоксидантного статуса у кур родительского стада на инкубационные качества яиц и метаболический профиль выводимых цыплят, что широко используют при мониторинге клинического статуса птицы и для ранней диагностики риска возникновения патологического процесса [7, 9, 10].

Целью исследований являлось изучение метаболического статуса бройлеров родительского стада кросса Кобб 500 на 32 и 58 неделе продуктивного использования, оценке инкубационных качеств яйца, полученного от них в исследуемые периоды, а также исследование метаболического статуса полученных цыплят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В птицеводческом хозяйстве Белгородской области для проведения исследований было сформировано две группы клинически здоровых кур-несушек кросса Кобб 500: I группа — в возрасте 32 недели (первый этап активной яйценоскости), II группа — в возрасте 58 недель (последний этап яйценоскости). Куры получали сбалансированные рационы в соответствии с возрастными потребностями. Лабораторные исследования проводили на базе ФГБНУ «ВНИВИПФиТ». Исследования крови проводили на гематологиче-

ском анализаторе ABX Micros 60 (ABX Diagnostics, Франция). Биохимические исследования проводили на автоматическом анализаторе Hitachi-902 (Roche Diagnostics GmbH, Германия — Япония). Унифицированные методы использовали для определения витаминов E, A и мочевой кислоты в сыворотке крови [11]. Метод электрофореза в агарозном геле применяли для подсчета белковых фракций. В крови кур ($n = 5$) определяли показатели: содержание общего белка, холестерина, кальция, неорганического фосфора, мочевой кислоты, активность аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), концентрацию общих иммуноглобулинов, лизоцимную активность сыворотки крови (ЛАСК).

Из каждой партии яиц было отобрано по 10 штук для определения физико-химических показателей: содержание каротиноидов, витаминов A, E, B₂, активную кислотность белка и желтка; морфологических показателей (масса яйца, индекс формы, толщина скорлупы, единицы Хау).

В печени кур и цыплят определяли содержание витаминов A, E, B₂, C, каротина и микроэлементов (железа, меди, цинка, марганца, кобальта, селена). В крови у цыплят, полученных от бройлеров родительского стада, определяли общий белок, холестерин, фосфор, мочевую кислоту, кальций, активность АлАТ, АсАТ, ЩФ, ЛАСК, общие иммуноглобулины. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью компьютерных программ Statsoft Statistika 6.0 и Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При исследовании проб крови от кур-бройлеров родительского стада 32- и 58- недельного возраста были выявлены достоверные различия по ряду биохимических показателей крови, а также по показателям естественной неспецифической резистентности (табл. 1).

Таблица 1

Результаты исследования крови бройлеров родительского стада ($M \pm m$)

Показатели	Возраст бройлеров, недели / группа		Референсные значения
	I группа (32)	II группа (58)	
1	2	3	4
Белок общий, г/л	43,7 ± 1,05	57,2 ± 1,11***	43,0—59,0°
Холестерин, мМ/л	2,3 ± 0,29	4,0 ± 0,31**	2,8—5,2°
Кальций, мМ/л	3,2 ± 0,08	3,4 ± 0,04*	2,9—3,4°

Окончание табл. 1

1	2	3	4
Фосфор неорганический, мМ/л	1,6 ± 0,08	1,7 ± 0,07	1,3—1,9°
Мочевая кислота, мкМ/л	223,5 ± 21,20	180,2 ± 12,10	176,8—1326,0 [∞]
АлАТ, Е/л	10,7 ± 0,73	9,2 ± 0,88	5,7—17,1 [∞]
АсАТ, Е/л	243,3 ± 12,40	185,3 ± 14,90*	196,8—226,1 [∞]
ЩФ, Е/л	538,0 ± 0,14	674,0 ± 15,00***	572,5—1151,9 [∞]
Общие иммуноглобулины, г/л	13,0 ± 0,97	16,2 ± 1,67	—
ЛАСК, мкг/мл	0,10 ± 0,02	0,18 ± 0,02*	—

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ — относительно показателей группы птицы 32-недельного продуктивного использования

° [12]

∞ [13]

∞∞ [14]

У птицы на 58-й неделе выращивания отмечали достоверное увеличение общего белка на 30,9 % ($p < 0,001$) и холестерина на 73,9 % ($p < 0,01$) относительно аналогичных показателей у бройлеров на 32 неделе, что связано с интенсивно протекающими процессами роста и развития птицы.

Минеральные элементы принимают участие во всех биохимических процессах организма. Они имеют важное значение для кроветворения, тканевого дыхания, нормального функционирования всех систем и органов, укрепления защитных сил организма. Так кальций и фосфор необходимы для формирования костного скелета [15, 16]. Установлено, что содержание макроэлементов было выше во II группе птицы, относительно I группы: на 6,3 % — фосфора, и 6,3 % ($p < 0,05$) — кальция.

У кур с возрастом увеличивается частота случаев хронических и субклинических форм болезней обмена веществ, из числа которых наиболее часто диагностируются патология печени и обмена мочевой кислоты, которая является конечным продуктом белкового обмена у птицы, и ее значение может колебаться в широких пределах в зависимости от питания и физиологических особенностей кур [17].

Активность АсАТ была ниже у кур-бройлеров 58 — недельного возраста относительно птицы I группы на 23,8 % ($p < 0,05$), что вероятно связано с менее интенсивным обменом веществ.

Уровень ЩФ был выше в сыворотке крови кур родительского стада II группы на 25,3 % ($p < 0,001$), что могло быть связано с миграцией в организме кальция из костной ткани, идущего на формирование яичной скорлупы, а это, в свою очередь, приводило к повышению уровня этого фермента в крови. Полученные нами данные указывают на возрастные нарушения минерального обмена [9, 14].

Было отмечено увеличение таких показателей метаболической активности иммунной системы, как лизоцимная активность сыворотки крови и количества общих иммуноглобулинов на 80,0 % ($p < 0,05$) и 24,6 %; соответственно [9, 18].

Изучение витаминно-минеральной обеспеченности организма бройлеров родительского стада проводили определяя каротин, витамины А, Е, В₂, С, микроэлементы железо, медь, цинк, кобальт, селен, марганец в печени птицы двух экспериментальных групп (табл. 2).

Полученные результаты достоверной разницы между показателями обеих групп не имели, кроме содержания марганца, которое было выше на 38,1 % ($p < 0,05$) в печени бройлеров 58-недельного продуктивного использования.

Доинкубационная оценка качества яиц разновозрастных кур родительского стада показала возрастную однородность стада по массе яйца, индексу формы и толщине скорлупы. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 2

Результаты исследования проб ткани печени бройлеров родительского стада ($M \pm t$)

Показатели	Возраст бройлеров родительского стада, недель/ группа	
	I группа (32)	II группа (58)
Каротин, мкг/г	3,1 ± 0,44	3,2 ± 0,28
Витамин А, мкг/г	594,2 ± 6,93	592,6 ± 13,45
Витамин Е, мкг/г	12,4 ± 0,59	12,2 ± 0,51
Витамин В ₂ , мкг/г	11,7 ± 0,31	12,1 ± 0,27
Витамин С, мкг/г	37,8 ± 3,20	41,3 ± 1,80
Железо, мкг/г	276,4 ± 34,00	263,4 ± 25,32
Медь, мкг/г	3,7 ± 0,44	2,9 ± 0,18
Цинк, мкг/г	29,5 ± 3,03	27,1 ± 2,53
Марганец, мкг/г	2,1 ± 0,23	2,9 ± 0,17*
Кобальт, мкг/г	0,06 ± 0,002	0,05 ± 0,008
Селен, мкг/г	0,03 ± 0,004	0,03 ± 0,005

* $p < 0,05$ — относительно показателей группы птицы 32-недельного продуктивного использования

Таблица 3

Морфологический и физико-химический контроль куриных яиц ($M \pm t$)

Показатели	Возраст бройлеров родительского стада, недель	
	I группа (32)	II группа (58)
1	2	3
Масса яиц, г	68,8 ± 1,23	68,7 ± 0,98
Индекс формы, %	75,0 ± 5,17	76,0 ± 4,12
Масса белка, г	37,5 ± 1,10	38,4 ± 0,90
% от массы яйца	54,5 ± 2,55	55,9 ± 2,10
Масса желтка, г	22,5 ± 1,80	22,4 ± 1,40
% от массы яйца	32,7 ± 1,95	32,6 ± 1,75
Масса скорлупы, г	8,8 ± 0,80	7,9 ± 0,60
% от массы яйца	12,8 ± 0,96	11,5 ± 0,88
Масса белка/масса желтка	1,7 ± 0,60	1,7 ± 0,70
Толщина скорлупы, мм	0,37 ± 0,342	0,39 ± 0,354
Единицы Хау	78,7 ± 3,74	77,3 ± 2,98
pH желтка	6,6 ± 0,15	6,3 ± 0,14

Окончание табл. 2

1	2	3
рН белка	9,1 ± 0,20	9,1 ± 0,22
Содержание в желтке:		
Сумма каротиноидов, мкг/г	6,7 ± 0,15	8,7 ± 0,18***
Витамин А, мкг/г	9,3 ± 0,21	9,3 ± 0,22
Витамин Е, мкг/г	21,2 ± 0,49	14,1 ± 0,38***
Витамин В ₂ , мкг/г	4,0 ± 0,09	3,2 ± 0,10***
Общие иммуноглобулины, г/л	32,9 ± 0,63	29,8 ± 0,71**
Содержание в белке:		
Лизоцим белка, мг/г		
Общие иммуноглобулины белка, г/л	8,03 ± 0,13	7,4 ± 0,15**

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ — относительно показателей группы птицы 32-недельного продуктивного использования

Во всех исследованных яйцах желток не расплывался, был хорошо пигментирован, без пятен. Белок яиц от обеих групп птицы был прозрачный, без инородных включений, плотный слой сохранял форму.

Результаты анализа яиц, представленные в таблице 3, показали, что в желтке яиц, полученных от кур-бройлеров 58-недельного возраста, сумма каротиноидов была выше, чем в желтке яиц, полученных от птиц 32-недельного возраста, на 29,9 % ($p < 0,001$). Концентрация витамина А в обеих группах не имела достоверных отличий.

Известно, что дефицит витамина Е приводит к снижению выводимости и высокой эмбриональной смертности на последней стадии инкубации в связи с повреждениями, возникающими в сердечно-сосудистой системе эмбриона, а также может указывать на процессы угасания продуктивной функции организма птицы [8]. Установлено, что содержание витамина Е было ниже на 33,5 % ($p < 0,001$) в желтке яиц, полученных от кур родительского стада 58-недельного возраста.

Концентрация витамина В₂ также была ниже в желтке яиц, полученных от кур II группы на 20,0 % ($p < 0,001$). Недостаточность рибофлавина в яйце может привести к замиранию эмбрионов из-за замедленного развития аллантои-

са и нарушения использования белка и желтка [6]. Концентрация лизоцима в белке яиц, полученных от птицы второй группы, была ниже, чем в первой на 3,8 % ($p < 0,05$). Содержание иммуноглобулинов в желтке и белке яиц, полученных от бройлеров второй возрастной группы было ниже на 9,4 %, ($p < 0,01$) и 7,5 % ($p < 0,01$), соответственно, что может влиять на резистентность организма получаемых цыплят.

В сыворотке крови суточных цыплят, полученных от кур родительского стада на 58 неделе продуктивного использования, отмечали более низкое содержание общего белка — на 6,6 % ($p < 0,01$), на фоне его снижения в обеих группах (табл. 4).

Отмечено уменьшение содержания кальция и фосфора в сыворотке крови суточных цыплят, полученных от бройлеров II группы, на 29,4 % ($p < 0,001$) и 12,5 % ($p < 0,001$), соответственно, на фоне их снижения в обеих группах птицы. Содержание в сыворотке крови холестерина у цыплят, полученных от кур 58-й недели продуктивного использования было ниже на 5,6 % ($p < 0,05$). Концентрация мочевой кислоты в обеих группах была в пределах референсных значений, но в группе цыплят от кур-бройлеров на 58 неделе продуктивного использования ее содержание было выше на 6,3 % ($p < 0,05$).

Таблица 4

Биохимические и иммунологические показатели крови суточных цыплят ($M \pm m$)

Показатели	Группа		Референсные значения
	цыплята от кур-бройлеров 32 нед. (I группа)	цыплята от кур-бройлеров 58 нед. (II группа)	
Белок общий, г/л	34,6 ± 0,63	32,3 ± 0,39**	43,0—59,0°
Холестерин, мМ/л	5,4 ± 0,09	5,1 ± 0,09*	2,8—5,2°
Кальций, мМ/л	3,4 ± 0,09	2,4 ± 0,08***	2,9—3,4°
Фосфор неорганический, мМ/л	4,0 ± 0,08	3,5 ± 0,03***	1,3—1,9°
Мочевая кислота, мкМ/л	684,6 ± 11,48	728,0 ± 16,09*	176,8—1326,0 [∞]
АлаАт, Е/л	9,7 ± 0,96	10,3 ± 0,84	5,7—17,1 [∞]
АсАт, Е/л	246,7 ± 4,37	263,8 ± 4,84*	196,8—226,1 [∞]
ЩФ, Е/л	279,8 ± 13,20	360,6 ± 10,70**	572,5—1151,9 [∞]
Общие иммуноглобулины, г/л	8,1 ± 0,35	5,9 ± 0,27***	—
ЛАСК, мкг/мл	0,24 ± 0,03	0,23 ± 0,03	—

* $p < 0,05$

** $p < 0,01$

*** $p < 0,001$ — относительно показателей группы птицы 32-недельного продуктивного использования

° [12]

∞ [13]

[∞] [14]

Активность АсАТ, отвечающего за ускорение высвобождения аммиака из аминокислот для его последующей переработки в цикле мочевины, в обеих группах было выше референсных значений. Отмечали достоверное увеличение определяемого показателя на 6,9 % ($p < 0,05$) в группе цыплят, полученных от птицы на 58 неделе выращивания.

В сыворотке крови цыплят, полученных от кур II группы наблюдали достоверное повышение уровня щелочной фосфатазы на 28,9 % ($p < 0,001$), относительно аналогичного показателя I группы.

Увеличение активности фермента в крови наблюдается при нарушении минерального обмена, что связано с повышением интенсивности обмена кальция и фосфора между костной тканью и организмом, при одновременном снижении уровня кальция в крови [14, 17].

Снижение уровня общих иммуноглобулинов на 27,2 % ($p < 0,001$) у цыплят, полученных от бройлеров родительского стада II группы, свидетельствует о более низкой метаболической активности иммунной системы [9, 18].

Результаты исследования печени суточных цыплят представлены в таблице 5.

В печени цыплят, полученных от кур старшего возраста, отмечено более высокое содержание каротина — на 16,7 % ($p < 0,001$), при более низкой концентрации витамина А — на 20,6 % ($p < 0,01$), указывающей на снижение метаболической и депонирующей функции печени в период их эмбрионального развития [19, 20].

Также, у цыплят этой группы в ткани печени выявлено более высокое содержание витамина С — на 43,7 % ($p < 0,01$).

По содержанию микроэлементов в печени цыплят двух групп достоверных значений получено не было, но наблюдалась тенденция к снижению содержания цинка, марганца, кобальта и селена во второй группе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При более длительном периоде продуктивного использования птицы отмечено увеличение концентрации биологически активных веществ

в яйце, что создает более оптимальные условия развития эмбриона и получение более жизнеспособных цыплят, однако, отмечено снижение показателей иммунитета, что может повышать риски нару-

шения развития эмбрионов. Цыплята, полученные от кур старшего возраста имеют больший потенциал роста, но и более высокие риски нарушения обмена веществ.

Таблица 5

Результаты исследования проб ткани печени суточных цыплят ($M \pm m$)

Показатели	Группы	
	Цыплята от кур-бройлеров 32 нед. (I группа)	Цыплята от кур-бройлеров 58 нед. (II группа)
Содержание витаминов		
Каротин, мкг/г	9,0 ± 0,15	10,5 ± 0,24***
Витамин А, мкг/г	22,8 ± 1,10	18,1 ± 1,00**
Витамин Е, мкг/г	15,6 ± 0,70	15,3 ± 0,76
Витамин В ₂ , мкг/г	11,0 ± 0,36	10,6 ± 0,23
Витамин С, мкг/г	45,8 ± 3,29	65,8 ± 5,05**
Содержание микроэлементов		
Железо, мкг/г	60,2 ± 3,81	61,8 ± 4,44
Медь, мкг/г	4,6 ± 0,15	4,7 ± 0,22
Цинк, мкг/г	19,2 ± 1,5	18,1 ± 2,50
Марганец, мкг/г	3,1 ± 0,20	2,8 ± 0,26
Кобальт, мкг/г	0,005 ± 0,0006	0,004 ± 0,0005
Селен, мкг/г	0,009 ± 0,0010	0,006 ± 0,0006

** $p < 0,01$

*** $p < 0,001$ — относительно показателей группы птицы 32 — недельного продуктивного использования

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Астраханцев А. А. Продуктивность, качество продукции и биологические особенности кур-несушек кроссов «Родонит — 2», «Хайсекс коричневый» и «Хайсекс белый» / А. А. Астраханцев // Автореф. дис. ... канд. с. — х. наук. — Ижевск, 2009. — 24 с.

2. Котарев В. И. Влияние кормовой добавки Ликви-про на качество яиц, продуктивность и сохранность кур — несушек кросса Хайсекс Браун / В. И. Котарев, Л. В. Лядова, Н. Н. Иванова, Д. А. Белоусов // Ветеринарный фармакологический вестник. 2019. — № 2(7). — С. 73—77.

3. Фисинин В. И. Новые подходы к оценке функции пищеварения у кур/ В. И. Фисинин, В. Г. Вертипрахов, А. А. Грозина // Российская сельскохозяйственная наука. — 2018. — №1. — С. 49—53.

4. Котарев В. И. Оценка качества инкубационных яиц кросса чешский доминант и результаты выращивания молодняка при применении в рационе пробиотической добавки/ Котарев В. И., Денисенко Л. И., Шипилов В. В. — Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии, 2021. — № 4 (56). — С. 167—172.

5. Колесник Е. А. Корреляционная взаимосвязь сохранности и клинико-биохимических параметров у бройлеров кросса ISA15 / Е. А. Колесник, М. А. Дерхо // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. — 2011. — Том 3. — № 31—1. — С. 10.

6. Котарев В. И. Влияние неинфекционных патологий и биохимического статуса кур-несушек на качество яиц / Котарев В. И., Лядова Л. В., Пронина Е. В., Вла-

сова Г. В., Морозова Е. Е., Попов С. Ю. Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2018. № 4. С. 183—186.

7. Фисинин В. И. Биологические основы повышения эффективности производства куриных яиц / В. И. Фисинин, А. Ш. Кавтарашвили, Ш. А. Имангулов. — Сергиев Посад, 1999. — 180 с.

8. Wang Z. Abundant proliferating cells within early chicken taste buds indicate a potentially «built-in» progenitor system for taste bud growth during maturation in hatchlings / Z. Wang, Y. Yoshida, N. E. Kramer [et al.] // *Histol Histopathol.* — 2019. — Vol. 34. — P. 503—511.

9. Karadas F. Changes in broiler chick tissue concentrations of lipid-soluble antioxidants immediately post-hatch / F. Karadas, P. F. Surai, N. H. Sparks // *Compar. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.*, 2011. — С. 68—71.

10. Titov V. Yu. Nitric oxide (NO) in bird embryogenesis: physiological role and ability of practical use / V. Yu. Titov, E. Z. Vinnikova, N. S. Akimova, V. I. Fisinin // *World's Poultry Science Journal*, 2012. — С. 83—95.

11. Кондрахин И. П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики / И. П. Кондрахин, А. В. Архипов, В. И. Левченко, Г. А. Таланов, Л. А. Фролова, В. Э. Новиков. — М: Колос, 2004. — 520 с.

12. Бессарабов Б. Ф. Незаразные болезни птиц / Б. Ф. Бессарабов. — М: Колос, 2007. — 175 с.

13. Мотузко Н. С. Справочник клинико-биологических показателей у животных / Н. С. Мотузко, Ю. И. Никитин, А. П. Марценюк, В. Ф. Пинчук — Горки, 2001. — 72 с.

14. Насонов И. В. Методические рекомендации по гематологическим и биохимическим исследованиям у кур современных кроссов / И. В. Насонов, Н. В. Буй-

ко, Р. П. Лизун, В. Е. Волыхина, Н. В. Захарик, С. М. Якубовский. — Минск, 2014. — 32 с.

15. Зайцев С. Ю. Биохимия животных. Фундаментальные и клинические аспекты / С. Ю. Зайцев, Ю. В. Конопатов. — Санкт-Петербург-Москва-Краснодар. — Изд: «Лань», 2004. — 384 с.

16. Медведский В. А. Биологические основы минерального питания сельскохозяйственной птицы / В. А. Медведский, М. В. Базылев, Л. П. Большакова, Х. Ф. Мунаяр // *Научное обозрение. Биологические науки.* — 2016. — № 2. — с. 93—108.

17. Вертипрахов В. Г. Морфо-биохимические исследования крови у сельскохозяйственной птицы: учеб. пособие / В. Г. Вертипрахов, А. А. Грозина, С. В. Карамушкина [и др.], под ред. В. Г. Вертипрахова; Дальневосточный государственный аграрный университет, Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства РАН. — Благовещенск: Дальневосточный ГАУ, 2021. — 134 с.

18. Бессарабов Б. Ф. Лабораторная диагностика клинического и иммунобиологического статуса у сельскохозяйственной птицы: учебник Б. Ф. Бессарабов, С. А. Алексеева, Л. В. Клетикова. — Москва: КолосС, 2008. — 150 с.

19. Павлюченко И. П. Биохимические аспекты изучения бета-каротина («Каролина») / И. П. Павлюченко, А. А. Басов, А. Э. Моргоев, С. Г. Павленко, П. К. Волкова // *Успехи современного естествознания.* — 2009. — № 2. — С. 54—55.

20. Середа Т. И. Особенности конверсии каротина и витамина А в организме кур в системе «Кровь — печень — яйцо» / Т. И. Середа, М. А. Дерхо, Л. М. Разумовская // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета.* — 2014. — № 3(47). — С. 172—175.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

В. И. Котарев — доктор сельскохозяйственных наук, главный научный сотрудник лаборатории гематологии и биохимии отдела клинико-лабораторных исследований;

Л. В. Лядова — кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории гематологии и биохимии отдела клинико-лабораторных исследований;

Л. И. Денисенко — кандидат сельскохозяйственных наук, младший научный сотрудник лаборатории гематологии и биохимии отдела клинико-лабораторных исследований;

Н. Н. Иванова — кандидат сельскохозяйственных наук, младший научный сотрудник лаборатории гематологии и биохимии отдела клинико-лабораторных исследований;

Г. Г. Чусова — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории гематологии и биохимии отдела клинико-лабораторных исследований.

Статья поступила в редакцию 14.06.2023 г.

METABOLIC STATUS OF BROILERS OF THE PARENT FLOCK, HATCHING QUALITIES OF EGGS AND RESISTANCE OF CHICKENS OBTAINED FROM THEM IN VARIOUS PERIODS OF PRODUCTIVE USE

Vyacheslav Ivanovich Kotarev, Lyudmila Viktorovna Lyadova, Larisa Ivanovna Denisenko, Nadezhda Nikolaevna Ivanova, Galina Germanovna Chusova

All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia, nadiv84@list.ru

Abstract. The article presents the material on the study of the metabolic status of broilers of the parent flock of Cobb 500 cross in various periods of productive use. The indicators of the quality of hatching eggs, blood biochemical and immunological indicators of day-old chickens obtained from broilers of the parent flock of 32 (I group) and 58 (II group) weeks of productive use were determined. At the 58th week of rearing poultry, a significant increase in the blood total protein by 30.9 % ($p < 0.001$) was noted; cholesterol — by 73.9 % ($p < 0.001$); calcium — by 6.3 % ($p < 0.05$) relative to similar indicators in the poultry of group I. The biochemical analysis of egg white and yolk showed that in the second age group the amount of carotenoids was higher by 29.9 % ($p < 0.001$); the concentration of vitamin E and B2 was lower by 33.5 % ($p < 0.001$) and 20.0 % ($p < 0.001$), respectively. The content of immunoglobulins in the yolk and protein of eggs obtained from broilers of the second age group was lower by 9.4 % ($p < 0.01$) and 7.5 % ($p < 0.01$), respectively. A lower content in the blood serum of day-old chicks obtained from poultry of 58 weeks of productive use was noted, total protein — by 6.6 % ($p < 0.01$), calcium — by 29.4 % ($p < 0.001$) and phosphorus — by 12.5 % ($p < 0.001$), relative to similar indicators of the first study group. With a longer period of productive use of poultry, an increase in the concentration of biologically active substances in the egg has been noted, which creates optimal conditions for the development of the embryo and the production of viable chickens, however, a decrease in immunological indicators has been noted, which can lead to impaired development of embryos, an increase in embryonic mortality and the output of substandard young poultry. The chickens from older hens have a greater growth potential but also a higher risk of metabolic disorders.

Keywords: chickens of the parent flock, metabolic status, resistance, viability of chickens

The hatchability and further productivity of broiler chickens largely depend on the quality of the hatching eggs of the parent flock. One of the factors affecting their quality is the age and health of the poultry of the broiler parent flock [1—3].

Culling of adult and young poultry is under the constant control of the veterinary staff of the farms, which unfortunately cannot be said about dying embryos. Violations in the development of embryos lead not only to their death, but also to a significant increase in the percentage of weak, substandard young poultry. In addition, the viability of apparently healthy individuals also decreases. A bird that has been ill during the embryonic period grows and develops worse,

often not being able to realize good meat and egg productivity in the future [4].

The causes of embryonic mortality are not only violations of the incubation regime, but are often due to the low quality of hatching eggs, which is a consequence of inadequate feeding, violation of other elements of technology, as well as diseases of the reproductive organs, general non-communicable and infectious diseases of poultry [2, 5—8].

A large number of studies have been devoted to the search for optimal parameters for selecting eggs for incubation [1, 2, 4, 6]. At the same time, the role of various factors affecting the morphological and biochemical indicators of eggs and blood of chickens is

being studied. It is important to study the effect of antioxidant status in parent flock hens on the incubation quality of eggs and the metabolic profile of hatched chickens, which is widely used in monitoring the clinical status of poultry and for early diagnosis of the risk of a pathological process [7, 9, 10].

The objective of the research was to study the metabolic status of broilers of the parent flock of Cobb 500 cross of 32 and 58 weeks of productive use, to assess the incubation qualities of the eggs obtained from them during the study periods, as well as to study the metabolic status of the chickens obtained.

MATERIAL AND METHODS

On the poultry farm of Belgorod region, two groups of clinically healthy laying hens of Cobb 500 cross were formed for research: group I — at the age of 32 weeks (the first stage of active egg production), group II — at the age of 58 weeks (the last stage of egg production). The chickens received balanced diets in accordance with age requirements. Laboratory studies were carried out on the basis of FSBSI “ARVRIPP&T”. Blood studies were performed on an ABX Micros 60 hematological analyzer (ABX Diagnostics, France). Biochemical studies were performed on a Hitachi-902 automatic analyzer (Roche Diagnostics GmbH, Germany — Japan). Unified methods were used to determine vitamins E, A and uric acid in blood serum [11]. The agarose gel electrophoresis method was used to calculate

the protein fractions. In the blood of chickens ($n = 5$), the following indicators were determined: the content of total protein, cholesterol, calcium, inorganic phosphorus, uric acid, the activity of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (AP), the concentration of total immunoglobulins, serum lysozyme activity (SLA).

From each batch of eggs, 10 eggs were selected to determine the physicochemical indicators: the content of carotenoids, vitamins A, E, B₂, the active acidity of the protein and yolk; morphological indicators (egg mass, shape index, shell thickness, Haugh units).

The content of vitamins A, E, B₂, C, carotene and trace elements (iron, copper, zinc, manganese, cobalt, selenium) was determined in the liver of hens and chickens. The total protein, cholesterol, phosphorus, uric acid, calcium, activity of ALT, AST, AP, SLA and total immunoglobulins were determined in the blood of chickens obtained from broilers of the parent stock. Statistical processing of the obtained data was carried out using computer programs Statsoft Statistika 6.0 and Microsoft Excel.

STUDY RESULTS

In the study of blood samples from broiler chickens of the parent flock of 32 and 58 weeks of age, significant differences were revealed in a number of blood biochemical indicators, as well as in terms of natural nonspecific resistance (Table 1).

Table 1

Study results of the blood of broilers of the parent flock ($M \pm m$)

Indicators	Age of broilers, weeks/group		Reference values
	Group I (32)	Group II (58)	
1	2	3	4
Total protein, g/L	43.7 ± 1.05	57.2 ± 1.11***	43.0—59.0°
Cholesterol, mM/L	2.3 ± 0.29	4.0 ± 0.31**	2.8—5.2°
Calcium, mm/L	3.2 ± 0.08	3.4 ± 0.04*	2.9—3.4°
Phosphorus inorganic, mm/L	1.6 ± 0.08	1.7 ± 0.07	1.3—1.9°
Uric acid, μM/L	223.5 ± 21.20	180.2 ± 12.10	176.8—1326.0 ⁰⁰⁰
ALT, U/L	10.7 ± 0.73	9.2 ± 0.88	5.7—17.1 ⁰⁰
AST, U/L	243.3 ± 12.40	185.3 ± 14.90*	196.8—226.1 ⁰⁰
AP, U/L	538.0 ± 0.14	674.0 ± 15.00***	572.5—1151.9 ⁰⁰

Table 1 (the end)

1	2	3	4
Total immunoglobulins, g/L	13.0 ± 0.97	16.2 ± 1.67	—
SLA, µg/ml	0.10 ± 0.02	0.18 ± 0.02*	—

* $p < 0.05$

** $p < 0.01$

*** $p < 0.001$ — relative to the indicators of the group of poultry of 32 weeks of productive use

° [12]

°° [13]

°°° [14]

In the poultry of 58 weeks of rearing, a significant increase in total protein by 30.9 % ($p < 0.001$) and cholesterol by 73.9 % ($p < 0.01$) was noted relative to the similar indicators in broilers of 32 weeks, which was associated with intense ongoing processes of poultry growth and development.

Mineral elements take part in all biochemical processes of the body. They are important for hematopoiesis, tissue respiration, normal functioning of all systems and organs, strengthening the body's defenses. Thus, calcium and phosphorus are necessary for the formation of the bone skeleton [15, 16]. It was established that the content of macronutrients was higher in group II, relative to group I: phosphorus — by 6.3 % and calcium — by 6.3 % ($p < 0.05$).

In hens, with age, the incidence of chronic and subclinical forms of metabolic diseases increases, out of which the pathology of the liver and uric acid metabolism, which is the end product of protein metabolism in poultry, is most often diagnosed, and its value can vary widely depending on nutrition and physiological characteristics of hens [17].

AST activity was lower by 23.8 % ($p < 0.05$) in 58-week-old broilers relative to the poultry from group I, which was probably due to a less intense metabolism. The level of alkaline phosphatase was higher by 25.3 % ($p < 0.001$) in the blood serum of chickens of the parent flock of group II that could be due to the migration of calcium in the body from the bone tissue, which went to the formation of the eggshell, and this, in turn, led to the increase in the blood level of this enzyme. Our data indicate age-related disorders of mineral metabolism [9, 14].

There was noted an increase in such indicators of the metabolic activity of the immune system as serum lysozyme activity and the amount of total immunoglobulins by 80.0 % ($p < 0.05$) and 24.6 %, respectively [9, 18].

The study of vitamin and mineral sufficiency of the organism of broilers of the parent flock was carried out by determining carotene, vitamins A, E, B₂, C, trace elements (iron, copper, zinc, cobalt, selenium, manganese) in the liver of poultry of two experimental groups (Table 2).

Table 2

Study results of the liver tissue specimens of broilers of the parent flock (M ± m)

Indicators	Age of parent flock broilers, weeks/group	
	Group I (32)	Group II (58)
1	2	3
Carotene, µg/g	3.1 ± 0.44	3.2 ± 0.28
Vitamin A, µg/g	594.2 ± 6.93	592.6 ± 13.45
Vitamin E, µg/g	12.4 ± 0.59	12.2 ± 0.51
Vitamin B ₂ , µg/g	11.7 ± 0.31	12.1 ± 0.27

Table 2 (the end)

1	2	3
Vitamin C, µg/g	37.8 ± 3.20	41.3 ± 1.80
Iron, µg/g	276.4 ± 34.00	263.4 ± 25.32
Copper, µg/g	3.7 ± 0.44	2.9 ± 0.18
Zinc, µg/g	29.5 ± 3.03	27.1 ± 2.53
Manganese, µg/g	2.1 ± 0.23	2.9 ± 0.17*
Cobalt, µg/g	0.06 ± 0.002	0.05 ± 0.008
Selenium, µg/g	0.03 ± 0.004	0.03 ± 0.005

* $p < 0.05$ — relative to the indicators of the group of poultry of 32 weeks of productive use

The obtained results did not have a significant difference between the indicators of both groups, except for the content of manganese, which was higher by 38.1 % ($p < 0.05$) in the liver of broilers of 58 weeks of productive use.

Pre-incubation assessment of the quality of eggs from hens of the parent flock of different ages showed the age uniformity of the flock in terms of egg mass, shape index and shell thickness. The results are presented in Table 3.

Table 3

Morphological and physicochemical control of chicken eggs ($M \pm m$)

Indicators	Age of broilers from parent flock, weeks	
	Group I (32)	Group II (58)
1	2	3
Mass of eggs, g	68.8 ± 1.23	68.7 ± 0.98
Form index, %	75.0 ± 5.17	76.0 ± 4.12
Protein mass, g	37.5 ± 1.10	38.4 ± 0.90
% of egg mass	54.5 ± 2.55	55.9 ± 2.10
Yolk mass, g	22.5 ± 1.80	22.4 ± 1.40
% of egg mass	32.7 ± 1.95	32.6 ± 1.75
Shell mass, g	8.8 ± 0.80	7.9 ± 0.60
% of egg mass	12.8 ± 0.96	11.5 ± 0.88
Protein mass/yolk mass	1.7 ± 0.60	1.7 ± 0.70
Shell thickness, mm	0.37 ± 0.342	0.39 ± 0.354
Haugh units	78.7 ± 3.74	77.3 ± 2.98
Yolk pH	6.6 ± 0.15	6.3 ± 0.14
Protein pH	9.1 ± 0.20	9.1 ± 0.22

Table 3 (the end)

1	2	3
Content in yolk:		
The amount of carotenoids, µg/g	6.7 ± 0.15	8.7 ± 0.18***
Vitamin A, µg/g	9.3 ± 0.21	9.3 ± 0.22
Vitamin E, µg/g	21.2 ± 0.49	14.1 ± 0.38***
Vitamin B ₂ , µg/g	4.0 ± 0.09	3.2 ± 0.10***
Total immunoglobulins, g/L	32.9 ± 0.63	29.8 ± 0.71**
Content in protein:		
Protein lysozyme, mg/g		
Total immunoglobulins of protein, g/L	8.03 ± 0.13	7.4 ± 0.15**

* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ — relative to the indicators of the group of poultry of 32 weeks of productive use

In all the eggs studied, the yolk did not blur, it was well pigmented, without spots. The egg white from both groups of poultry was transparent, without foreign inclusions, the dense layer retained its shape.

The results of the analysis of eggs presented in Table 3 showed that in the yolk of eggs obtained from broilers at the age of 58 weeks, the amount of carotenoids was higher by 29.9 % ($p < 0.001$) than in the yolk of eggs obtained from broilers at the age of 32 weeks. The concentration of vitamin A in both groups had no significant differences.

It is known that vitamin E deficiency leads to a decrease in hatchability and high embryonic mortality at the last stage of incubation due to the damage that occurs in the cardiovascular system of the embryo, and may also indicate the processes of extinction of the productive function of the bird's body [8]. It was found that the content of vitamin E was lower by 33.5 % ($p < 0.001$) in the yolk of eggs obtained from chickens of the parent flock at the age of 58 weeks.

The concentration of vitamin B₂ was also lower in the yolk of eggs obtained from the chickens of group II by 20.0 % ($p < 0.001$). Insufficiency of riboflavin in the egg can lead to freezing of embryos due to delayed development of allantois and impaired use of protein and yolk [6].

The concentration of lysozyme in the protein of eggs obtained from the poultry of the second group was lower than in the first by 3.8 % ($p < 0.05$). The

content of immunoglobulins in the yolk and white of eggs obtained from broilers of the second age group was lower by 9.4 % ($p < 0.01$) and 7.5 % ($p < 0.01$), respectively, which may affect the resistance of the organism of the chickens obtained.

In the blood serum of day-old chickens obtained from hens of the parent flock of 58 weeks of productive use, a lower content of total protein was noted — by 6.6 % ($p < 0.01$), against the background of its decrease in both groups (Table 4).

A decrease in the serum content of calcium and phosphorus of day-old chickens obtained from the broilers of group II was noted: by 29.4 % ($p < 0.001$) and 12.5 % ($p < 0.001$), respectively, against the background of their decrease in both groups of poultry. The serum content of cholesterol in chickens obtained from hens of 58 weeks of productive use was lower by 5.6 % ($p < 0.05$).

The concentration of uric acid in both groups was within the reference values, but in the group of chickens from broiler hens of 58 weeks of productive use, its content was higher by 6.3 % ($p < 0.05$).

The activity of AST, which is responsible for accelerating the release of ammonia from amino acids for its subsequent processing in the urea cycle, was higher than the reference values in both groups. A significant increase in the determined indicator by 6.9 % ($p < 0.05$) was noted in the group of chickens obtained from the poultry of 58 weeks of rearing.

In the blood serum of chickens obtained from the hens of group II, a significant increase in the level of alkaline phosphatase by 28.9 % ($p < 0.001$) was observed, relative to the same indicator of group I.

An increase in the activity of the enzyme in the blood is observed in case of violation of mineral metabolism, which is associated with an increase in the intensity of the exchange of calcium and phosphorus

between bone tissue and the body, with a simultaneous decrease in the level of calcium in the blood [14, 17].

A decrease in the level of total immunoglobulins by 27.2 % ($p < 0.001$) in chickens obtained from the broilers of the parent flock of group II indicates a lower metabolic activity of the immune system [9, 18].

The results of the study of the liver of day-old chickens are presented in Table 5.

Table 4

Blood biochemical and immunological indicators of day-old chickens ($M \pm m$)

Indicators	Group		Reference values
	chickens from broilers of 32 weeks (group I)	chickens from broilers of 58 weeks (group II)	
Total protein, g/L	34.6 ± 0.63	32.3 ± 0.39**	43.0—59.0°
Cholesterol, mM/L	5.4 ± 0.09	5.1 ± 0.09*	2.8—5.2°
Calcium, mm/L	3.4 ± 0.09	2.4 ± 0.08***	2.9—3.4°
Phosphorus inorganic, mm/L	4.0 ± 0.08	3.5 ± 0.03***	1.3—1.9°
Uric acid, μM/L	684.6 ± 11.48	728.0 ± 16.09*	176.8—1326.0°
ALT, U/L	9.7 ± 0.96	10.3 ± 0.84	5.7—17.1°
AST, U/L	246.7 ± 4.37	263.8 ± 4.84*	196.8—226.1°
AP, U/L	279.8 ± 13.20	360.6 ± 10.70**	572.5—1151.9°
Total immunoglobulins, g/L	8.1 ± 0.35	5.9 ± 0.27***	—
SLA, μg/ml	0.24 ± 0.03	0.23 ± 0.03	—

* $p < 0.05$

** $p < 0.01$

*** $p < 0.001$ — relative to the indicators of the group of poultry of 32 weeks of productive use

° [12]

°° [13]

°°° [14]

Table 5

Study results of the liver tissue specimens of day-old chickens ($M \pm m$)

Indicators	Groups	
	chickens from broilers of 32 weeks (group I)	chickens from broilers of 58 weeks (group II)
1	2	3
Content of vitamins		
Carotene, μg/g	9.0 ± 0.15	10.5 ± 0.24***
Vitamin A, μg/g	22.8 ± 1.10	18.1 ± 1.00**
Vitamin E, μg/g	15.6 ± 0.70	15.3 ± 0.76

Table 5 (the end)

1	2	3
Vitamin B ₂ , µg/g	11.0 ± 0.36	10.6 ± 0.23
Vitamin C, µg/g	45.8 ± 3.29	65.8 ± 5.05**
Content of trace elements		
Iron, µg/g	60.2 ± 3.81	61.8 ± 4.44
Copper, µg/g	4.6 ± 0.15	4.7 ± 0.22
Zinc, µg/g	19.2 ± 1.5	18.1 ± 2.50
Manganese, µg/g	3.1 ± 0.20	2.8 ± 0.26
Cobalt, µg/g	0.005 ± 0.0006	0.004 ± 0.0005
Selenium, µg/g	0.009 ± 0.0010	0.006 ± 0.0006

** $p < 0.01$

*** $p < 0.001$ — relative to the indicators of the group of poultry of 32 weeks of productive use

In the liver of chickens obtained from older hens, a higher content of carotene was noted — by 16.7 % ($p < 0.001$), with a lower concentration of vitamin A — by 20.6 % ($p < 0.01$), indicating a decrease metabolic and depositing functions of the liver during their embryonic development [19, 20]. In the chickens of this group, a higher content of vitamin C was also found in the liver tissue — by 43.7 % ($p < 0.01$).

According to the content of trace elements in the liver of chickens of two groups, no significant values were obtained, but there was a tendency to reduce the content of zinc, manganese, cobalt and selenium in the second group.

CONCLUSION

In case of a longer period of productive use of poultry, an increase in the concentration of biologically active substances in the egg was noted, which created more optimal conditions for the development of the embryo and obtaining more viable chickens, however, a decrease in immunity was noted that may increase the risk of impaired development of the embryos. Chickens obtained from older hens have greater growth potential but also higher risks of metabolic disorders.

REFERENCES

1. Astrakhtantsev A. A. Productivity, product quality and biological characteristics of laying hens of the crosses Rhodnit — 2, Hisex Brown and Hisex White / A. A. Astrakhtantsev // Abstract of a thesis ... Cand. of Agricultural Sciences. — Izhevsk, 2009. — 24 p.

2. Kotarev V. I. Effect of feed additive Likvipro on the quality of eggs, productivity and livability of laying hens of the Hisex Brown cross / V. I. Kotarev, L. V. Lyadova, N. N. Ivanova, D. A. Belousov // Bulletin of Veterinary Pharmacology. 2019. — No. 2 (7). — P. 73—77.

3. Fisinin V. I. New approaches to assessing the function of digestion in chickens / V. I. Fisinin, V. G. Vertiprakhov, A. A. Grozina // Rossiyskaya selskokhozyaystvennaya nauka (Russian Agricultural Science). — 2018. — No1. — P. 49—53.

4. Kotarev V. I. Evaluation of the quality of hatching eggs of the Czech dominant cross and the results of rearing young poultry when using a probiotic supplement in the diet / Kotarev V. I., Denisenko L. I., Shipilov V. V. — Vestnik Ulyanovskoy gosudarstvennoy selskokhozyaystvennoy akademii (Bulletin of Ulyanovsk State Agricultural Academy), 2021. — No. 4 (56). — P. 167—172.

5. Kolesnik E. A. Correlation relationship between livability and clinical and biochemical parameters in ISA15 cross broilers / E. A. Kolesnik, M. A. Derkho // Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Proceedings of Orenburg State Agrarian University). — 2011. — Volume 3. — No. 31—1. — P. 10.

6. Kotarev V. I. Effect of non-infectious pathologies and biochemical status of laying hens on egg quality / Kotarev V. I., Lyadova L. V., Pronina E. V., Vlasova G. V., Morozova E. E., Popov S. Yu. Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii (Normative-legal regulatory issues in veterinary medicine). 2018. No. 4. P. 183—186.

7. Fisinin V. I. Biological bases for increasing the efficacy of chicken egg production / V. I. Fisinin, A. Sh. Kavtarashvili, Sh.A. Imangulov. — Sergiev Posad, 1999. — 180 p.

8. Wang Z. Abundant proliferating cells within early chicken taste buds indicate a potentially “built-in” progenitor system for taste bud growth during maturation in hatchlings / Z. Wang, Y. Yoshida, N. E. Kramer [et al.] // *Histol Histopathol.* — 2019. — Vol. 34. — P. 503—511.
9. Karadas F. Changes in broiler chick tissue concentrations of lipid-soluble antioxidants immediately post-hatch / F. Karadas, P. F. Surai, N. H. Sparks // *Compar. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.*, 2011. — P. 68—71.
10. Titov V. Yu. Nitric oxide (NO) in bird embryogenesis: physiological role and ability of practical use / V. Yu. Titov, E. Z. Vinnikova, N. S. Akimova, V. I. Fisinin // *World's Poultry Science Journal*, 2012. — P. 83—95.
11. Kondrakhin I. P. Methods of veterinary clinical laboratory diagnostics / I. P. Kondrakhin, A. V. Arkhipov, V. I. Levchenko, G. A. Talanov, L. A. Frolova, V. E. Novikov. — M: Kolos, 2004. — 520 p.
12. Bessarabov B. F. Non-infectious diseases of birds / B. F. Bessarabov. — M: Kolos, 2007. — 175 p.
13. Motuzko N. S. Handbook of clinical and biological indicators in animals / N. S. Motuzko, Yu. I. Nikitin, A. P. Martsenyuk, V. F. Pinchuk — Gorki, 2001. — 72 p.
14. Nasonov I. V. Methodical recommendations for hematological and biochemical studies in chickens of modern crosses / I. V. Nasonov, N. V. Buyko, R. P. Lizun, V. E. Volykhina, N. V. Zakharik, S. M. Yakubovskiy. — Minsk, 2014. — 32 p.
15. Zaytsev S. Yu. Biochemistry of animals. Fundamental and clinical aspects / S. Yu. Zaytsev, Yu. V. Konopatov. — St. Petersburg-Moscow-Krasnodar. — Publ. house: Lan, 2004. — 384 p.
16. Medvedskiy V. A. Biological bases of mineral nutrition of poultry / V. A. Medvedskiy, M. V. Bazylev, L. P. Bolshakova, H. F. Munayar // *Nauchnoe obozrenie. Biologicheskie nauki (Scientific Review. Biological Sciences).* — 2016. — No. 2. — p. 93—108.
17. Vertiprakhov V. G. Morphobiochemical studies of blood in poultry: textbook / V. G. Vertiprakhov, A. A. Grozina, S. V. Karamushkina [et al.], ed. by V. G. Vertiprakhov; Dalnevostochnyy gosudarstvennyy agrarnyy universitet, Vserossiyskiy nauchno-issledovatel'skiy i tekhnologicheskiy institut pitsevodstva RAN. — Blagoveshchensk: Dalnevostochnyy GAU (Far Eastern State Agrarian University, All-Russian Research and Technological Institute of Poultry of the RAS. — Blagoveshchensk: Far Eastern SAU), 2021. — 134 p.
18. Bessarabov B. F. Laboratory diagnostics of clinical and immunobiological status in poultry: textbook B. F. Bessarabov, S. A. Alekseeva, L. V. Kletikova. — Moscow: KolosS, 2008. — 150 p.
19. Pavlyuchenko I. P. Biochemical aspects of the study of beta-carotene (“Karolina”) / I. P. Pavlyuchenko, A. A. Basov, A. E. Morgoev, S. G. Pavlenko, P. K. Volkova // *Uspekhi sovremennoego estestvoznaniya (Successes of modern natural science).* — 2009. — No. 2. — P. 54—55.
20. Sereda T. I. Features of the conversion of carotene and vitamin A in the body of chickens in the Blood — Liver — Egg system / T. I. Sereda, M. A. Derkho, L. M. Razumovskaya // *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Proceedings of Orenburg State Agrarian University).* — 2014. — No. 3 (47). — P. 172—175.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

V. I. Kotarev — Doctor of Agricultural Sciences, Chief Scientific Associate of the Laboratory of Hematology and Biochemistry, Department of Clinical and Laboratory Studies;

L. V. Lyadova — Candidate of Agricultural Sciences, Principal Scientific Associate of the Laboratory of Hematology and Biochemistry, Department of Clinical and Laboratory Studies;

L. I. Denisenko — Candidate of Agricultural Sciences, Junior Scientific Associate of the Laboratory of Hematology and Biochemistry, Department of Clinical and Laboratory Studies;

N. N. Ivanova — Candidate of Agricultural Sciences, Junior Scientific Associate of the Laboratory of Hematology and Biochemistry, Department of Clinical and Laboratory Studies;

G. G. Chusova — Candidate of Biological Sciences, Principal Scientific Associate of the Laboratory of Hematology and Biochemistry, Department of Clinical and Laboratory Studies.

The article was submitted 14.06.2023.

Научная статья

УДК 619:618.14—002:636.2.034

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2023.3.56

КЛИНИКО-ЭХОГРАФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ДИАГНОСТИКА ГИПОПЛАЗИИ ЭНДОМЕТРИЯ У МОЛОЧНЫХ КОРОВ

Иван Владимирович Бондарев, Виталий Иванович Михалев✉,
Игорь Сергеевич Толкачев

*Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии,
фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, mikhalevviit@yandex.ru✉*

Аннотация. В статье представлены материалы изучения клинико-эхографических параметров и морфологического состояния эндометрия при его гипоплазии. Установлено, что гипоплазия эндометрия регистрируется в среднем у 7,4 % бесплодных коров. Гипоплазия эндометрия в 29,4 % случаев развивается на фоне гиподисфункционального состояния половых гонад, а 65,8 % случаев диагностируются лютеиновые кисты яичников, имеющие размеры $36,1 \pm 2,9$ мм. Эхографическим критерием диагностики гипоплазии эндометрия является толщина стенки — $3,5 \pm 0,14$ мм. Гипоплазия эндометрия характеризуется истончением эндометрия, наличием в нем клеток фибробластического ряда, сужением просвета маточных желез, гиалинозом кровеносных сосудов. При гипоплазии эндометрия процентное содержание функционально-активных элементов снижено в 2,55 раза по сравнению с животными без отклонений со стороны органов воспроизводства, в том числе покровного эпителия — в 3,59 раза, кровеносных сосудов — в 3,05 раза, маточных желез — в 2,26 раза.

Ключевые слова: коровы, эндометрий, гипоплазия, диагностика

В условиях интенсивного ведения животноводства, получения высокой продуктивности возрастает нагрузка на все системы организма животного, в том числе и на органы воспроизводства.

Напряженное функционирование обменных процессов является предрасполагающим фактором развития гормонально-метаболических нарушений и заболеваний органов репродукции. В основе развития хронических заболеваний матки у коров находятся нарушения течения послеродового периода, проявляющиеся в форме гнойно-воспалительных заболеваний, субинволюции матки, дисбаланса половых стероидов [1—3].

В общей структуре гинекологических заболеваний коров на долю хронических патологий матки гнойно-воспалительного и функционального характера приходится 65,0—74,6 % [4, 5].

Хронические воспалительные заболевания матки, проявляющиеся в форме эндометрита и пиометры, в большинстве случаев, являются продолжением острых процессов, вследствие несвоевременного или неэффективного лечения и диагностики [6].

Степень распространения хронических гнойно-воспалительных заболеваний у бесплодных коров достигает 28,3—30,0 % [7, 8].

Патологии матки у коров функционального характера менее распространены в молочном животноводстве. Наиболее часто диагностируемой формой является хроническая субинволюция матки — 36,7—43,8 %. В основе развития субинволюции матки лежат нарушения инволюционных процессов в матке, создающих неблагоприятные условия для развития зародыша [9, 10].

Наименее распространенной формой хронических заболеваний матки у коров является гипоплазия эндометрия. В литературе сведения, касающиеся гипоплазии эндометрия, носят отрывочный характер, в том числе и по причине отсутствия критериев ее диагностики.

Поэтому изучение симптоматики гипоплазии эндометрия и разработка критериев ее диагностики является актуальной задачей.

Цель исследований — изучить клинико-эхографические показатели и критерии диагностики гипоплазии эндометрия у коров.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследования являлись бесплодные коровы через 45—120 дней после отела, разделенные по принципу аналогов на две группы: без отклонений со стороны органов воспроизводства ($n = 15$) и гипоплазия эндометрия ($n = 10$). Для изучения клинико-эхографических параметров гипоплазии эндометрия проведены клинические, трансректальные и эхографические исследования. Трансректальные исследования выполнены общепринятыми в акушерско-гинекологической практике методами, ультразвуковые — с применением сканера Easy-Scan-3. При проведении исследований учитывали: топографию матки, ее размеры, консистенция, ригидность, толщина стенки матки, размер полости рогов матки, наличие или отсутствие гноя, размеры желтого тела в яичниках, наличие или отсутствие фолликулярных и лютеиновых кист и их размеры.

От всех животных, включенных в опыт, отобран биопсийный материал из стенки эндометрия для проведения гистологических исследований. Отобраный биопсийный материал фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина, обезживали в спиртах, хлороформе и заливали в парафин. Срезы готовили на микротоме МПС-2 толщиной 5—7 мкм, депарафинировали и окрашивали гематоксилин-эозином.

Морфометрические исследования образцов стенки матки при гипоплазии эндометрия проведены по Г. Г. Автандилову (1990).

Полученный цифровой материал подвергали статистической обработке с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При изучении степени распространения гипоплазии эндометрия установлено, что данная патология матки регистрируется в среднем у 7,4 % бесплодных коров. При увеличении продолжительности бесплодия до 60—90 дней частота регистрации гипоплазии эндометрия повышается до 9,0 %, 90—120 дней — до 12,9 %. Кроме того, с повышением молочной продуктивности с 5000 до 9000 кг гипоплазия эндометрия у коров диагностируется в 1,88 раза чаще.

При проведении клинико-акушерских и ультразвуковых исследований установлено, что при гипоплазии эндометрия матка не увеличена, находится в тазовой полости, дряблой консистенции, не реа-

гирует на массаж. Стенки матки при данной патологии составляют в среднем $3,5 \pm 0,14$ мм. При проведении УЗИ-исследований коров с гипоплазией эндометрия не удается диагностировать наличие полостей в области рогов матки. При гипоплазии эндометрия лишь в 4,8 % случаев в яичниках выявляются функционально активные желтые тела, имеющие диаметр $13,4 \pm 0,9$ мм, в 29,4 % — гипофункциональное состояние половых гонад, в 65,8 % — лютеиновые кисты, диаметр которых составляет $36,1 \pm 2,9$ мм, что в 1,24—1,35 раза ($P < 0,05—0,01$) больше по сравнению с другими патологиями матки.

У клинически здоровых коров матка располагается в тазовой полости, упруго-эластичной консистенции, на массаж реагирует сокращениями. У коров без отклонения со стороны органов воспроизводства стенка матки достигает $5,6 \pm 0,16$ мм. У 81,7 % этих животных в половых гонадах регистрируются желтые тела полового цикла, достигающие в размере $14,5 \pm 0,7$ мм.

Результаты гистологических исследований свидетельствуют о том, что при гипоплазии эндометрия диагностируется целостный покровный эпителий, представленный клетками кубической формы (рис. 1—2). В слизистой оболочке диагностируется небольшое количество спавшихся маточных желез, свидетельствующее о пониженной их функциональной активности. В строме эндометрия обнаружены клетки фибробластического ряда, характеризующее начало развития соединительной ткани. Кровеносные сосуды при гипоплазии спавшиеся, стенки которых гиалинизированы.

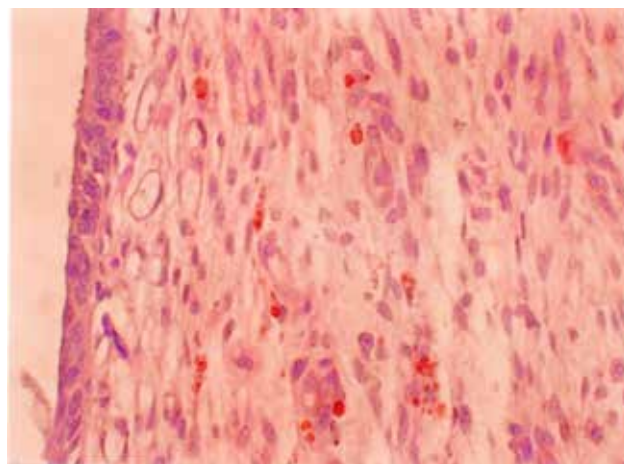


Рис. 1. Кубический покровный эпителий и значительная клеточная инфильтрация у коровы при гипоплазии эндометрия. Окр. гем.-эозин. Ув. ок. 7, об. 40

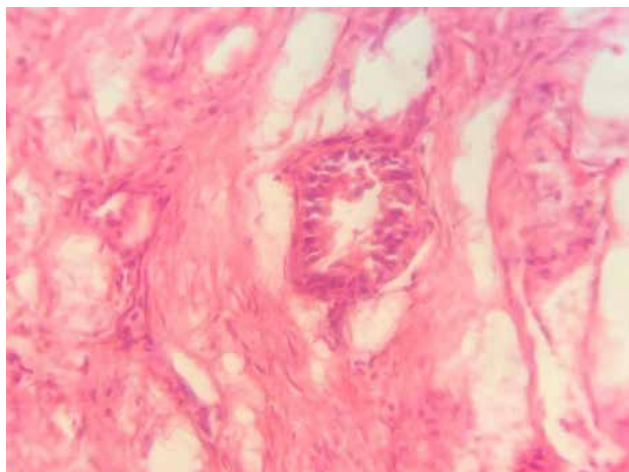


Рис. 2. Уменьшение количества и сужение просвета маточных желез при гипоплазии эндометрия у коровы. Окр. гем.-эозин. Ув. ок. 7, об. 40

При гипоплазии эндометрия процентное содержание функционально-активных элементов снижено в 2,55 раза по сравнению с животными без отклонений со стороны органов воспроизводства, в том числе покровного эпителия — в 3,59 раза ($P < 0,001$), кровеносных сосудов — в 3,05 раза ($P < 0,001$), маточных желез — в 2,26 раза ($P < 0,001$) (табл. 1).

Высота клеток покровного эпителия при гипоплазии эндометрия меньше на ниже на 27,8 % ($P < 0,01$) по сравнению с клинически здоровыми животными, толщина эндометрия — на 38,3 % ($P < 0,001$), высота эпителиоцитов маточных желез — на 26,6 % ($P < 0,001$) (табл. 2).

Результаты изучения стереометрических показателей эндометрия при его гипоплазии представлены в таблице 3.

Таблица 1

Структурная характеристика эндометрия коров при его гипоплазии

Патология	Покровный эпителий, %	Маточные железы, %	Кровеносные сосуды, %	Строма эндометрия, %
Гипоплазия эндометрия	0,84 ± 0,08***	6,72 ± 0,44***	2,04 ± 0,13***	90,40 ± 4,5
Без отклонений со стороны органов воспроизводства	3,02 ± 0,22	15,2 ± 0,8	6,23 ± 0,37	75,55 ± 4,5

*** $P < 0,001$ — по сравнению с животными без отклонений со стороны органов воспроизводства

Таблица 2

Планиметрические показатели эндометрия коров при его гипоплазии

Патология	Высота покровного эпителия, мкм	Толщина эндометрия, мкм	Высота эпителия маточных желез, мкм
Гипоплазия эндометрия	14,3 ± 1,12**	204,6 ± 15,4***	9,4 ± 0,62***
Без отклонений со стороны органов воспроизводства	19,8 ± 1,32	331,7 ± 22,4	12,8 ± 0,92

** $P < 0,01$

*** $P < 0,001$ — по сравнению с животными без отклонений со стороны органов воспроизводства

Установлено, что при гипоплазии эндометрия объем эпителиоцитов маточных желез снижен на 29,8 % ($P < 0,001$), в том числе их ядер — на 24,9 % ($P < 0,001$), а объем клеток покровного эпителия и их ядер — соответственно на 18,8 % ($P < 0,001$) и 23,5 % ($P < 0,001$), что подтверждает результаты гистологических исследований, свидетельствующи-

щих о развитии дистрофических и пролиферативных процессов в эндометрии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, диагностика гипоплазии эндометрия основывается на клинико-эхографических данных и результатах гистологических исследова-

ний. Гипоплазия эндометрия в 29,4 % случаев развивается на фоне гипофункционального состояния половых гонад, а 65,8 % случаев диагностируются лютеиновые кисты яичников, имеющие размеры $36,1 \pm 2,9$ мм, что приводит к повышенному уровню прогестерона. Состояние гиперпрогестеронемии приводит к угнетению сократительной активности органа, уменьшением толщины его стенки на

37,5 %, чем у животных без отклонения со стороны органов воспроизводства. Эхографическим критерием диагностики гипоплазии эндометрия является толщина стенки — $3,5 \pm 0,14$ мм. Гипоплазия эндометрия характеризуется истончением эндометрия, наличием в нем клеток фибробластического ряда, сужением просвета маточных желез, гиалинозом кровеносных сосудов.

Таблица 3

Стереометрические показатели эндометрия коров при его гипоплазии

Патология	Объем ядер эпителиоцитов маточной железы, мкм ³	Объем эпителиоцитов маточных желез, мкм ³	Объем ядер эпителиоцитов покровного эпителия, мкм ³	Объем эпителиоцитов покровного эпителия, мкм ³
Гипоплазия эндометрия	$122,4 \pm 10,1^{***}$	$349,8 \pm 28,7^{***}$	$160,3 \pm 12,1^{***}$	$641,5 \pm 51,2^{***}$
Без отклонений со стороны органов воспроизводства	$162,9 \pm 10,3$	$498,1 \pm 29,7$	$209,5 \pm 13,7$	$789,3 \pm 44,1$

*** $P < 0,001$ — по сравнению с животными без отклонений со стороны органов воспроизводства

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Карташов С. Н.* Различия экспрессии маркера пролиферации PCNA в патологическом эндометрии, проблемы классификации гиперпролиферативных изменений эндометрия / С. Н. Карташов // Научный электронный журнал КубГАУ. — № 6 (14). — 2005. — С. 15—19.

2. *Brooks K.* Concept use longation in ruminants: roles of progesterone, prostaglandin, interferon-tau and cortisol / K. Brooks, G. Burns, T. E. Spencer // J. Anim. Sei. Biotechnol. — 2014. — № 5 (1). — P. 53.

3. *Tzora A.* Bacteriological and epidemiological findings during examination of the uterine content of ewes with retention of fetal membranes / A. Tzora, L. S. Leontides, G. S. Amiridis et al. // Theriogenology. — 2009. — Vol. 24. — P. 297—311.

4. *Конопельцев И. Г.* Распространение акушерско-гинекологических заболеваний у коров в биогеохимической провинции с дефицитом селена / И. Г. Конопельцев, Е. В. Видякина, Н. В. Плетенев и др. // Матер. Международной научно-практ. конф., посвящ. 35-летию организации ВНИВИПФиТ. — Воронеж, 2005. — С. 106—108.

5. *Медведев Г. Ф.* Влияние заболеваемости метритного комплекса на частоту синдрома «повторение половой охоты» у коров / Г. Ф. Медведев, Н. И. Гавриченко // Матер. международ. научно-практ. конф., посвящ.

85-летию со дня рожд. проф. Г. А. Черемисинова и 50-летию создания Воронежской школы ветеринарных акушеров. — Воронеж, 2012. — С. 332—338.

6. *Гнетов А. Н.* Фармакотоксикологические свойства и эффективность нородина при профилактике и лечении послеродового эндометрита у коров / А. Н. Гнетов: дис. ... канд. вет. наук. — Воронеж, 2008—150 с.

7. *Белобороденко А. М.* Репродуктивная функция коров в условии гиподинамии // А. М. Белобороденко, М. А. Белобороденко, Т. А. Белобороденко // Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизведения животных: Матер. международ. научно-практ. конф. — Воронеж, 2012. — С. 96—104.

8. *Михалев В. И.* Хроническая субинволюция матки у коров / В. И. Михалев, В. Д. Мисайлов, С. М. Сулейманов, И. С. Толкачев, Ю. В. Сергеев // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. — 2006. — № 2. — С. 25—28.

9. *Панков Б. Г.* Профилактика, фармакопрофилактика, ранняя диагностика, лечение клинических и скрытых форм эндометритов у коров / Б. Г. Панков, А. В. Жаров // М.: учебное пособие. — 2008. — 104 с.

10. *Бондарев И. В.* Хроническая субинволюция матки у коров — актуальная проблема современного животноводства / И. В. Бондарев, В. И. Михалев, Ю. В. Сергеев и др. // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2020. — № 2 (11). — С. 191—205.

И. В. Бондарев, В. И. Михалев, И. С. Толкачев

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

И. В. Бондарев — аспирант;

В. И. Михалев — доктор ветеринарных наук, заведующий сектором;

И. С. Толкачев — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник.

Статья поступила в редакцию 07.07.2023 г.

CLINICAL AND ECHOGRAPHIC CHARACTERISTICS AND ENDOMETRIAL HYPOPLASIA IN DAIRY COWS

Ivan Vladimirovich Bondarev, Vitaliy Ivanovich Mikhalev✉, Igor Sergeevich Tolkachev

*All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy,
Voronezh, Russia, mikhalevvit@yandex.ru✉*

Abstract. The article presents the material for the study of clinical and echographic parameters and the morphological state of the endometrium in case of its hypoplasia. It has been established that endometrial hypoplasia is registered on average in 7.4 % of infertile cows. Endometrial hypoplasia in 29.4 % of cases develops against the background of a hypofunctional state of the genital gonads, and 65.8 % of cases are diagnosed with luteal ovarian cysts measuring 36.1 ± 2.9 mm. The echographic criterion for diagnosing endometrial hypoplasia is the wall thickness — 3.5 ± 0.14 mm. Endometrial hypoplasia is characterized by thinning of the endometrium, the presence of fibroblastic cells in it, narrowing of the lumen of the uterine glands and hyalinosis of blood vessels. In case of endometrial hypoplasia, the percentage of functionally active elements is reduced by 2.55 times, compared with the animals without deviations in the reproductive organs, including the integumentary epithelium — by 3.59 times, blood vessels — by 3.05 times, uterine glands — by 2.26 times.

Keywords: cows, endometrium, hypoplasia, diagnostics

Under conditions of intensive animal husbandry, obtaining high productivity, the load on all systems of the animal's body, including the organs of reproduction, increases.

The intense functioning of metabolic processes is a predisposing factor in the development of hormonal and metabolic disorders and diseases of the reproductive organs. At the heart of the development of chronic uterine diseases in cows are violations of the postpartum period course, manifested in the form of purulent and inflammatory diseases, uterine subinvolution, imbalance of sex steroids [1—3].

In the general structure of gynecological diseases of cows, chronic purulent and inflammatory and functional uterine pathologies account for 65.0—74.6 % [4, 5].

Chronic inflammatory uterine diseases, manifested in the form of endometritis and pyometra, in most cases, are a continuation of acute processes due to untimely or ineffective treatment and diagnosis [6]. The prevalence of chronic purulent and inflammatory diseases in infertile cows reaches 28.3—30.0 % [7, 8].

Bovine uterine pathologies of a functional nature are less common in dairy farming. The most frequently diagnosed form is chronic uterine subinvolution — 36.7—43.8 %. The development of uterine subinvolution is based on violations of involutational processes

in the uterus, which create unfavorable conditions for the embryo development [9, 10].

The least common form of chronic bovine uterine disease is endometrial hypoplasia. In the literature, information regarding endometrial hypoplasia is fragmentary, including due to the lack of criteria for its diagnosis.

Therefore, the study of the symptoms of endometrial hypoplasia and the development of criteria for its diagnosis is an urgent task.

The objective of the research is to study the clinical and echographic indicators and criteria for diagnosing endometrial hypoplasia in cows.

MATERIAL AND METHODS

The object of the study was infertile cows 45—120 days after calving, divided into two groups according to the principle of analogues: without deviations in the reproductive organs ($n = 15$) and endometrial hypoplasia ($n = 10$). To study the clinical and echographic parameters of endometrial hypoplasia, clinical, transrectal and echographic studies were carried out. Transrectal examinations were performed by the methods generally accepted in obstetric and gynecological practice, ultrasound examinations were performed using the Easy-Scan-3 scanner. When conducting research, the following were taken into account:

the topography of the uterus, its dimensions, consistency, rigidity, the thickness of the uterine wall, the size of the cavity of the uterine horns, the presence or absence of pus, the size of the corpus luteum in the ovaries, the presence or absence of follicular and luteal cysts and their sizes.

From all animals included in the experiment, biopsy material from the endometrial wall was obtained for histological studies. The obtained biopsy material was fixed in 10 % neutral formalin solution, dehydrated in alcohols, chloroform and embedded in paraffin. Sections of 5—7 μm were prepared on an MPS-2 microtome, deparaffinized and stained with hematoxylin-eosin.

Morphometric studies of uterine wall samples with endometrial hypoplasia were carried out according to G. G. Avtandilov (1990).

The resulting digital material was subjected to statistical processing using the Statistica 6.0 software package. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

STUDY RESULTS

When studying the degree of endometrial hypoplasia distribution, it has been found that this uterine pathology is recorded on average in 7.4 % of infertile cows. With an increase in the duration of infertility up to 60—90 days, the frequency of registration of endometrial hypoplasia increases up to 9.0 %, 90—120 days — up to 12.9 %. In addition, with an increase in milk productivity from 5000 to 9000 kg, endometrial hypoplasia in cows is diagnosed by 1.88 times more often.

When conducting clinical obstetric and ultrasound studies, it has been found that in case of endometrial hypoplasia, the uterus is not enlarged, is in the pelvic cavity, flabby, does not respond to massage. The walls of the uterus in case of this pathology are of 3.5 ± 0.14 mm. When conducting ultrasound studies of the cows with endometrial hypoplasia, it is not possible to diagnose the presence of cavities in the area of the uterine horns. In case of endometrial hypoplasia, only in 4.8 % of cases functionally active corpora lutea with a diameter of 13.4 ± 0.9 mm are detected in the ovaries, in 29.4 % — a hypofunctional state of the genital gonads, in 65.8 % — luteal cysts, the diameter of which is 36.1 ± 2.9 mm, which is by 1.24—1.35 times ($P < 0.05$ — 0.01) more than other uterine pathologies.

In clinically healthy cows, the uterus is located in the pelvic cavity, has an elastic-resilient consistency and reacts with contractions to massage. In the cows

without deviation from the reproductive organs, the uterine wall reaches 5.6 ± 0.16 mm. In 81.7 % of these animals, corpora lutea of the sexual cycle is recorded in the genital gonads, reaching a size of 14.5 ± 0.7 mm.

The results of histological studies indicate that in case of endometrial hypoplasia, a complete integumentary epithelium is diagnosed, represented by the cells of a cubic shape (Fig. 1—2). In the mucous membrane, a small amount of collapsed uterine glands is diagnosed, indicating their reduced functional activity. In the stroma of the endometrium, there have been found cells of the fibroblastic series, which characterize the beginning of the connective tissue development. In case of hypoplasia, blood vessels are collapsed, the walls of them are hyalinized.

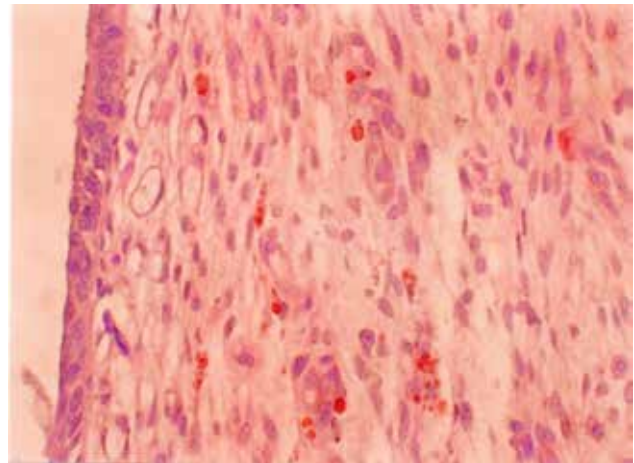


Fig. 1. Cubic integumentary epithelium and slight cellular infiltration in a cow with endometrial hypoplasia. H&E staining. Ocular mag. 7, lens 40

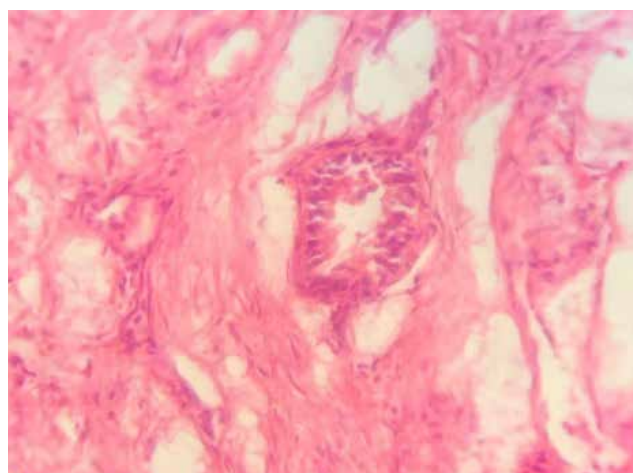


Fig. 2. Reducing the number and narrowing of the lumen of the uterine glands in case of endometrial hypoplasia in a cow. H&E staining. Ocular mag. 7, lens 40

In case of endometrial hypoplasia, the percentage of functionally active elements is reduced by 2.55 times, compared with the animals without deviations in the reproductive organs, including the integumentary epithelium — by 3.59 times ($P < 0.001$), blood vessels — by 3.05 times ($P < 0.001$), uterine glands — by 2.26 times ($P < 0.001$) (Table 1).

The height of the cells of the integumentary epithelium in case of endometrial hypoplasia is by 27.8 % ($P < 0.01$) lower than in clinically healthy animals, the thickness of the endometrium — by 38.3 % ($P < 0.001$), the height of epitheliocytes of the uterine glands — by 26.6 % ($P < 0.001$) (Table 2).

The results of the study of stereometric indicators of the endometrium in case of its hypoplasia are presented in Table 3.

It has been found that in case of endometrial hypoplasia, the volume of epithelial cells of the uterine glands is reduced by 29.8 % ($P < 0.001$), including their nuclei — by 24.9 % ($P < 0.001$), and the volume of the cells of the integumentary epithelium and their nuclei — by 18.8 % ($P < 0.001$) and 23.5 % ($P < 0.001$), respectively, which confirms the results of histological studies indicating the development of dystrophic and proliferative processes in the endometrium.

Table 1

Structural characteristics of the endometrium of the cows with its hypoplasia

Pathology	Integumentary epithelium, %	Uterine glands, %	Blood vessels, %	Endometrial stroma, %
Hypoplasia of the endometrium	0.84 ± 0.08***	6.72 ± 0.44***	2.04 ± 0.13***	90.40 ± 4.5
No deviations in the reproductive organs	3.02 ± 0.22	15.2 ± 0.8	6.23 ± 0.37	75.55 ± 4.5

*** $P < 0.001$ — compared with the animals without deviations in the reproductive organs

Table 2

Planimetric indicators of the endometrium of the cows with its hypoplasia

Pathology	Height of the integumentary epithelium, μm	Thickness of the endometrium, μm	Height of the epithelium of the uterine glands, μm
Hypoplasia of the endometrium	14.3 ± 1.12**	204.6 ± 15.4***	9.4 ± 0.62***
No deviations in the reproductive organs	19.8 ± 1.32	331.7 ± 22.4	12.8 ± 0.92

** $P < 0.01$

*** $P < 0.001$ — compared with the animals without deviations in the reproductive organs

Table 3

Stereometric indicators of the endometrium of the cows with its hypoplasia

Pathology	Volume of nuclei of epithelial cells of the uterine gland, μm ³	Volume of epithelial cells of the uterine glands, μm ³	Volume of nuclei of epitheliocytes of the integumentary epithelium, μm ³	Volume of epitheliocytes of the integumentary epithelium, μm ³
Hypoplasia of the endometrium	122.4 ± 10.1***	349.8 ± 28.7***	160.3 ± 12.1***	641.5 ± 51.2***
Without deviations in the reproductive organs	162.9 ± 10.3	498.1 ± 29.7	209.5 ± 13.7	789.3 ± 44.1

*** $P < 0.001$ — compared with the animals without deviations in the reproductive organs

CONCLUSION

Thus, the diagnosis of endometrial hypoplasia is based on clinical and echographic data and the results of histological studies. Endometrial hypoplasia in 29.4 % of cases develops against the background of a hypofunctional state of the genital gonads, and 65.8 % are diagnosed with luteal ovarian cysts measuring 36.1 ± 2.9 mm, which leads to an increased level of progesterone. The state of hyperprogesteronemia leads to inhibition of the contractile activity of the organ, a decrease in the thickness of its wall by 37.5 % than in the animals without deviation in the reproductive organs. The echographic criterion for diagnosing endometrial hypoplasia is the wall thickness — 3.5 ± 0.14 mm. Endometrial hypoplasia is characterized by thinning of the endometrium, the presence of fibroblast cells in it, narrowing of the lumen of the uterine glands and hyalinosis of blood vessels.

REFERENCES

1. *Kartashov S. N.* Differences in the expression of the PCNA proliferation marker in the pathological endometrium, problems of classification of hyperproliferative changes in the endometrium / S. N. Kartashov // *Nauchnyy elektronnyy zhurnal KubGAU (Scientific electronic journal of KubSAU)*. — No. 6 (14). — 2005. — P. 15—19.
2. *Brooks K.* Concept use longation in ruminants: roles of progesterone, prostaglandin, interferon-tau and cortisol / K. Brooks, G. Burns, T. E. Spencer // *J. Anim. Sei. Biotechnol.* — 2014. — No. 5 (1). — P. 53.
3. *Tzora A.* Bacteriological and epidemiological findings during examination of the uterine content of ewes with retention of fetal membranes / A. Tzora, L. S. Leontides, G. S. Amiridis et al. // *Theriogenology*. — 2009. — Vol. 24. — P. 297—311.
4. *Konopeltsev I. G.* Distribution of obstetric and gynecological diseases in cows in the biogeochemical province with selenium deficiency / I. G. Konopeltsev, E. V. Vidyakina, N. V. Pletenev et al. // *Mater. of International Scientific and Practical. Conf. Dedicated to 35th Anniversary since the Foundation of the organization ARVRIPP&T (VNIVIP-FiT)*. — Voronezh, 2005. — P. 106—108.
5. *Medvedev G. F.* Effect of the incidence of the metritis complex on the frequency of the “repetition of estrus” syndrome in cows / G. F. Medvedev, N. I. Gavrichenko // *Mater. of International Scientific and Practical. Conf. Dedicated to the 85th Anniversary since the Birth of Prof. G. A. Cheremisinov and the 50th Anniversary of Voronezh School of Veterinary Obstetricians*. — Voronezh, 2012. — p. 332—338.
6. *Gnetov A. N.* Pharmacotoxicological properties and efficacy of norodin in the prevention and treatment of postpartum endometritis in cows / A. N. Gnetov: thesis ... *Cand. of Vet. Sciences*. — Voronezh, 2008—150 p.
7. *Beloborodenko A. M.* Reproductive function of cows in the condition of physical inactivity // A. M. Beloborodenko, M. A. Beloborodenko, T. A. Beloborodenko // *Modern problems of veterinary obstetrics and animal reproduction biotechnology: Mat. of International Scientific and Practical Conf.* — Voronezh, 2012. — P. 96—104.
8. *Mikhalev V. I.* Chronic uterine subinvolution in cows / V. I. Mikhalev, V. D. Misaylov, S. M. Suleymanov, I. S. Tolkachev, Yu.V. Sergeev // *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Proceedings of Orenburg State Agrarian University)*. — 2006. — No. 2. — P. 25—28.
9. *Pankov B. G.* Prevention, pharmacoprophylaxis, early diagnosis, treatment of clinical and latent forms of endometritis in cows / B. G. Pankov, A. V. Zharov // *M.: textbook*. — 2008. — 104 p.
10. *Bondarev I. V.* Chronic uterine subinvolution in cows is an actual problem of modern animal husbandry / I. V. Bondarev, V. I. Mikhalev, Yu.V. Sergeev et al. // *Bulletin of Veterinary Pharmacology*. — 2020. — No. 2 (11). — P. 191—205.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

- I. V. Bondarev** — Postgraduate Student;
V. I. Mikhalev — Doctor of Veterinary Sciences, Head of the Sector;
I. S. Tolkachev — Candidate of Biological Sciences, Senior Scientific Associate.

The article was submitted 07.07.2023.

Научная статья

УДК 618.2:618.3:636.2

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2023.3.65

ИММУННЫЙ СТАТУС КОРОВ С РАЗНЫМ СРОКОМ БЕРЕМЕННОСТИ И В РАННИЙ ПОСЛЕРОДОВОЙ ПЕРИОД

Павел Андреевич Паршин*, Галина Анатольевна Востроилова*,
Юрий Николаевич Бригадиров*, Иван Тихонович Шапошников*,
Максим Сергеевич Жуков*✉, Лариса Юрьевна Сашнина*, Кристина Олеговна Акулова*,
Олег Валериевич Якимчук**

*Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии,
фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, maxim.zhukoff2015@yandex.ru✉

**Юдановские просторы, Воронеж, Россия

Аннотация. Целью работы явилось изучение иммунной системы коров с синдромом анемии и хронического системного воспаления во время беременности и в ранний послеродовой период. Для выполнения поставленной цели была изучена динамика иммунологических показателей здоровых коров ($n = 15$), с синдромом анемии ($n = 8$) и хронического системного воспаления низкой степени интенсивности ($n = 7$). На 150—160, 210—220 и 260—265 дни беременности и через неделю после родов у изучаемых групп животных производился отбор проб крови. В крови определяли содержание провоспалительных (ИЛ-1 β , ИЛ-2, ФНО- α и ИНФ- γ) и противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-10) цитокинов, а также показатели клеточного (количество Т- и В-лимфоцитов, ФАН, ФЧ, ФИ, и НСТ-тест) и гуморального иммунитета (IgM, IgA, IgG, КАСК, БАСК, ЛАСК и ЦИК). Установлено, что у коров, независимо от клинического состояния, начиная с 210—220 дня стельности, наступает критический период, характеризующийся подавлением клеточного и гуморального иммунитета, в результате которого ФАН уменьшалась на 6,2—10 %, спонтанный НСТ-тест на 17,4—19,4 %, а БАСК в среднем на 10 % ($P < 0,05$). Также у коров с сопутствующей патологией отмечается дисбаланс между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами, что создает риски осложнения беременности и развития патологий у потомства. У коров, с нормально протекающей беременностью в ранний послеродовой период наблюдается восстановление иммунологических показателей, но у животных с анемией, наблюдающейся во время беременности, в послеродовой период происходит снижение активности иммунной системы. Уровень Т- и В-лимфоцитов был достоверно ниже показателей здоровых на 26,1 и 53,1 %, а ФАН, ЛАСК и КАСК на 29,1; 10,3 и 33,9 % соответственно. На фоне существующей патологии это создает риск выбытия или нарушения воспроизводительной способности. При анализе сервис-периода данных животных наблюдалось его увеличение в 2,7 раза. Аналогичные тенденции и риски создавались и у коров с синдромом хронического системного воспаления низкой степени интенсивности.

Ключевые слова: коровы, беременность, анемия, хроническое воспаление, цитокины, гуморальный и клеточный иммунитет, ранний послеродовой период, сервис-период

ВВЕДЕНИЕ

Одной из основных задач современного скотоводства является сохранение продуктивного долголетия и повышение плодовитости коров. Однако, в условиях промышленной технологии производства в силу разнообразных причин (технологических, экологических, эпизоотологических) у животных развиваются иммунодефициты и на-

рушения обмена веществ. Нарушение иммунного статуса выражается в угнетении гуморального и клеточного звеньев иммунитета [11].

Беременность, роды и послеродовой период являются наиболее сложными в процессе эксплуатации молочного скота. В настоящее время сложилось четкое понимание, что формирование и течение беременности, сопровождаемое специфической

© Паршин П. А., Востроилова Г. А., Бригадиров Ю. Н., Шапошников И. Т., Жуков М. С., Сашнина Л. Ю., Акулова К. О., Якимчук О. В., 2023

морфологической и гомеостатической перестройкой материнского организма, во многом определяется состоянием как эндокринной, так и иммунной систем (в частности цитокинами). Цитокины регулируют все этапы гестационного процесса от имплантации blastocyst до механизма родового акта [9]. Причем, на протяжении беременности значимость тех или иных факторов изменяется, что обусловлено особенностями этапов формирования плаценты, изменением популяционного состава клеток продуцентов цитокинов в динамике гестационного процесса и наличием сопутствующих патологических состояний у беременных.

Одной из наиболее распространенной патологией является анемия [12]. Вместе с этим достаточно широкое распространение среди коров имеют хронические болезни конечностей, матки, молочной железы и др. [1, 3, 5]. При этом необходимо отметить, что влияние анемии и хронических воспалительных процессов на состояние иммунной системы беременных коров в период беременности и после родов не изучалось.

Целью работы явилось изучение иммунного статуса коров с синдромом анемии и хронического системного воспаления во время беременности и в ранний послеродовой период.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в весенне-летний период 2022 года в условиях животноводческого комплекса, расположенного в Воронежской области с учетом требований биоэтической комиссии ФГБНУ «ВНИВИПФиТ». В исследовании задействовались коровы красно-пестрой породы (голландизированные) 2—3 лактации и сроком беременности 150—160 дней. Животные подверглись комплексному клинико-лабораторному обследованию, в результате которого они были разделены на 3 группы: группа 1 ($n = 15$) — здоровые коровы; группа 2 ($n = 8$) — коровы с гипохромной микроцитарной анемией; группа 3 ($n = 7$) — коровы с синдромом хронического системного воспаления низкой степени интенсивности. Коровы находились на привязном содержании и получали полноценный рацион. После родов регистрировалось время до плодотворного осеменения всех задействованных в исследовании коров. На 150—160, 210—220 и 260—265 дни беременности и через неделю после родов у животных проводился отбор проб крови из хвостовой вены с помощью вакуумной системы в пробирки с активатором свер-

тываемости крови SiO_2 и ЭДТА («Chengdu Puth Medical Plastics Packaging Co., Ltd.» Китай). В сыворотке крови определяли: интерлейкин-1 β (ИЛ-1 β), интерлейкин-2 (ИЛ-2), интерлейкин-4 (ИЛ-4), интерлейкин-10 (ИЛ-10), фактор некроза опухоли-альфа (ФНО- α), интерферон-гамма (ИНФ- γ), в соответствии с утвержденными наставлениями к диагностическим наборам (ВЕКТОР-БЕСТ) Россия, иммуноглобулин М (IgM), иммуноглобулин А (IgA), иммуноглобулин G (IgG) в соответствии с утвержденными наставлениями к тест-системам фирмы Cloud-Clone Corp.) USA, методом иммуноферментного анализа. Уровень комплементарной (КАСК), бактерицидной (БАСК) и лизоцимной (ЛАСК) активности сыворотки крови, фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН), фагоцитарное число (ФЧ), фагоцитарный индекс (ФИ) и проводили постановку НСТ-теста согласно методическим рекомендациям [6]. Количество Т- и В-лимфоцитов, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) определяли в соответствии с методическими рекомендациями [7]. При выполнении лабораторных исследований использовали фотоэлектроколориметр КФК-3 (Россия), анализатор иммуноферментных реакций АИФР-01 УНИПЛАНтм (ЗАО «ПИКОН», Россия) и микроскоп Микромед 3 U3 (ООО «Наблюдательные приборы», Россия).

Полученный материал подвергался статистической обработке в пакете программ Statistica v 6.1. Рассчитывали среднюю арифметическую (M) и стандартную ошибку средней (SE). Достоверность различия между выборками оценивали с помощью непараметрического критерия Манна — Уитни. При проверке статистических гипотез использовали 5 % уровень значимости: 1 — $P < 0,05$ в сравнении с группой здоровых коров; 2 — $P < 0,05$ в сравнении с данными на 150—160 день стельности; 3 — $P < 0,05$ в сравнении с данными на 260—265 день стельности.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследование цитокинового профиля коров показало, что у животных из 2 группы со сроком стельности 150—160 дней количество ИЛ-1 β , ИЛ-2 и ФНО- α было увеличено на 59,4 %, 50,0 % и 84,6 % соответственно. Уровень противовоспалительного ИЛ-4 достоверно не отличался, а ИЛ-10 был на 42,2 % ниже, чем в группе здоровых животных. В группе 3 уровень ИЛ-1 β был выше показателей здоровых животных в 2 раза, а ФНО- α и ИЛ-2 увеличены на 88,5 и 81,3 % соответствен-

но. Содержание противовоспалительных интрелейкинов было понижено: ИЛ-4 на 27,3 %, а ИЛ-10 на 39,1 %. При повторном исследовании крови у коров со сроком стельности 210—220 дней в 1-й группе наблюдалось достоверное увеличение ИЛ-2 на 6,3 % и ИЛ-4 в 2,5 раза при сохранении относительной стабильности других показателей. В группе 2 уровень ФНО-α достоверно не изменился, а показатель ИЛ-1β возрос и был на 90 % выше чем в группе 1. Также отмечено увеличение уровня ИЛ-4 в 2,2 раза по сравнению с таковым у здоровых животных. Показатели ИЛ-2, ИЛ-10 и ИНФ-γ при этом достоверно не изменились. В группе 3 сохранился ранее сформированный цитокиновый профиль,

который не претерпел каких-либо достоверных изменений (табл. 1).

На 260—265 день стельности у коров из первой группы произошло снижение количества ИЛ-2 на 15,6 % и ИЛ-4 до исходного уровня, и ИНФ-γ на 15,6 %. В то же время в группе 2 наблюдалось увеличение показателей ИЛ-1β и ФНО-α, которые были в 2,1 и 2 раза выше чем у коров из группы 1. Вместе с этим отмечалось увеличение ИЛ-4, уровень которого стал выше в 9,6 раза относительно коров из группы сравнения, а ИЛ-2 оставался без изменений. В группе 3 сохранялся повышенный уровень провоспалительных и низкий показатель противовоспалительных цитокинов.

Таблица 1

Цитокиновый профиль коров с разным клиническим состоянием во время беременности и после отела

Показатели	Группа	Беременность, дни			После отела
		150—160	210—220	260—265	
ИЛ-1β, пг/мл	1	3,2 ± 0,16	3,0 ± 0,25	2,9 ± 0,09	2,6 ± 0,10 ^{2,3}
	2	5,1 ± 0,17 ¹	5,7 ± 0,301 ^{1,2}	6,1 ± 0,25 ^{1,2}	5,8 ± 0,27 ¹
	3	6,6 ± 0,47 ¹	6,5 ± 0,22 ¹	5,9 ± 0,08 ^{1,2}	15,2 ± 2,28 ^{1,3}
ИЛ-2, пг/мл	1	3,2 ± 0,17	3,4 ± 0,20	2,7 ± 0,22 ²	3,0 ± 0,17
	2	4,8 ± 0,15 ¹	4,7 ± 0,03 ¹	4,6 ± 0,17 ¹	4,5 ± 0,09 ¹
	3	5,8 ± 0,19 ¹	6,0 ± 0,30 ¹	5,4 ± 0,04 ^{1,2}	5,5 ± 0,07 ¹
ИЛ-4, пг/мл	1	2,2 ± 0,25	5,4 ± 0,74 ²	2,1 ± 0,43	4,1 ± 0,25 ^{2,3}
	2	2,3 ± 0,48	11,7 ± 0,47 ^{1,2}	20,2 ± 2,95 ^{1,2}	5,1 ± 0,95 ^{2,3}
	3	1,6 ± 0,20	3,7 ± 1,02 ²	1,8 ± 0,18	5,2 ± 1,46 ^{2,3}
ИЛ-10, пг/мл	1	6,4 ± 0,03	7,0 ± 1,01	6,8 ± 0,47	7,8 ± 0,93
	2	3,7 ± 0,15 ¹	4,2 ± 0,42 ^{1,2}	3,9 ± 0,30 ¹	4,5 ± 0,15 ^{1,3}
	3	3,9 ± 0,42 ¹	4,2 ± 0,35 ¹	4,0 ± 0,39 ¹	4,4 ± 0,55 ¹
ФНО-α, пг/мл	1	2,6 ± 0,06	2,7 ± 0,13	2,6 ± 0,05	2,2 ± 0,02 ^{1,2,3}
	2	4,8 ± 0,18 ¹	4,7 ± 0,12 ¹	5,2 ± 0,24 ^{1,2}	4,6 ± 0,06 ^{1,3}
	3	4,9 ± 0,37 ¹	4,7 ± 0,06 ¹	4,9 ± 0,21 ¹	5,5 ± 0,27 ^{1,3}
ИНФ-γ, пг/мл	1	4,4 ± 0,28	4,5 ± 0,40	3,8 ± 0,05 ²	3,9 ± 0,06
	2	4,4 ± 0,28	4,4 ± 0,21	3,9 ± 0,08	4,1 ± 0,12
	3	4,0 ± 0,05	4,2 ± 0,12	4,0 ± 0,09	4,7 ± 0,20 ^{1,2,3}

¹ $P < 0,05$ в сравнении с группой здоровых коров

² $P < 0,05$ в сравнении с данными на 150—160 день стельности

³ $P < 0,05$ в сравнении с данными на 260—265 день стельности

Цитокиновый профиль коров после отела из группы 1 характеризовался снижением провоспалительных и увеличением противовоспалительных цитокинов. Так, количество ИЛ-1 β и ФНО- α у данных животных снизилось на 10,3 и 15,4 % соответственно, а количество ИЛ-4 и ИЛ-10 увеличилось на 95,2 и 14,7 %. У коров 2-й группы отмечалось сохранение повышенного уровня провоспалительных и снижение содержания противовоспалительных цитокинов. ИЛ-1 β и ФНО- α были 2,2 и 2,1 раза выше в сравнении с таковыми показателями коров из группы 1. ИЛ-10 был ниже на 42,3 %, а ИЛ-4 не имел достоверно значимого отличия. Также отмечалось сохранение высокого уровня ИЛ-2, количество которого было на 50,0 % выше, чем у коров из 1-й группы. У животных из группы 3 произошла активизация выработки провоспалительных цитокинов. ИЛ-1 β и ФНО- α были в 5,9 и 2,5 раза выше, чем у коров из группы 1. При этом наблюдалось увеличение ИЛ-4 (в 2,9 раза) и ИЛ-10 (на 10,0 %), однако количество ИЛ-4 достоверно не отличалось от такового коров группы 1, а ИЛ-10 был ниже на 43,6 %. ИЛ-2 при этом не изменился, но был выше уровня

здоровых животных на 83,3 %, а ИНФ- γ возрос на 17,5 % и был выше группы сравнения на 20,5 %.

Иммунологические исследования показали, что у коров второй группы достоверно выше в 1,4 раза содержание С-реактивного белка и IgM на 15,9 %, а показатели БАСК, ЛАСК, КАСК, IgA и IgG были ниже на 1,8; 6,1; 19,6; 4,3 и 27,5 % соответственно по сравнению с группой здоровых животных. У коров с признаками хронического воспаления выявлены незначительные иммунологические отклонения в виде уменьшения БАСК и ЛАСК на 1,6 и 7,3 % соответственно и увеличения количества иммуноглобулина А и G на 15,6 и 19,5 %. Изучение Т- и В-лимфоцитов показало, что абсолютное количество Т- и В-лимфоцитов имело достоверное межгрупповое отличие.

Так, количество Т-лимфоцитов в группе 2 и 3 было на 26,9 и 22,3 % ниже, чем в группе 1, а В-лимфоцитов ниже на 23,8 % соответственно. НСТ-тест показал, что у коров 2 группы спонтанный НСТ-тест достоверно не отличался от здоровых животных, а стимулированный НСТ-тест был выше на 14,3 % (табл. 2).

Таблица 2

Показатели клеточного и гуморального иммунитета у коров с разным клиническим состоянием во время беременности и после отела

Показатели	Группа	Беременность, дни			После отела
		150—160	210—220	260—265	
1	2	3	4	5	6
Т-лимфоциты, 10 ⁹ /л	1	1,75 ± 0,071	1,74 ± 0,088	1,64 ± 0,101	2,34 ± 0,066 ³
	2	1,28 ± 0,092 ¹	1,46 ± 0,073 ^{1,2}	1,51 ± 0,058 ²	1,73 ± 0,108 ^{1,3}
	3	1,36 ± 0,126 ¹	1,59 ± 0,118	1,49 ± 0,038	1,83 ± 0,177 ^{1,3}
В-лимфоциты, 10 ⁹ /л	1	0,84 ± 0,046	1,10 ± 0,07 ²	0,67 ± 0,083 ²	1,30 ± 0,114 ³
	2	0,64 ± 0,049 ¹	0,98 ± 0,050 ²	0,61 ± 0,061	0,61 ± 0,062 ¹
	3	0,64 ± 0,047 ¹	1,23 ± 0,134 ²	0,56 ± 0,038	0,94 ± 0,094 ^{1,2,3}
ФАН, %	1	82,3 ± 0,97	74,2 ± 0,81 ²	77,2 ± 0,49 ²	91,3 ± 0,67 ^{2,3}
	2	81,0 ± 1,0	76,0 ± 1,56 ²	76,3 ± 0,70 ²	73,4 ± 2,51 ^{1,2}
	3	83,3 ± 1,13	74,9 ± 1,57 ²	77,1 ± 0,74 ²	76,7 ± 4,08 ^{1,2}
ФЧ, ед	1	8,3 ± 0,21	7,2 ± 0,13 ²	5,4 ± 0,18 ²	8,7 ± 0,39 ³
	2	8,4 ± 0,17	7,2 ± 0,20 ²	5,7 ± 0,24 ²	7,7 ± 0,65 ³
	3	8,1 ± 0,08	7,4 ± 0,12 ²	5,6 ± 0,26 ²	8,4 ± 0,59 ³

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6
ФИ, ед	1	10,1 ± 0,27	10,4 ± 0,18	9,8 ± 0,15	9,9 ± 0,27
	2	9,6 ± 0,15	9,4 ± 0,27 ²	9,9 ± 0,32	9,4 ± 0,43
	3	7,0 ± 0,27 ¹	7,5 ± 0,33 ¹	7,2 ± 0,34 ¹	9,9 ± 0,34
спНСТ, %	1	17,2 ± 0,80	14,2 ± 0,87 ²	14,8 ± 1,10 ²	15,8 ± 1,22
	2	18,0 ± 1,36	14,5 ± 0,98 ²	15,3 ± 0,53 ²	16,4 ± 1,15
	3	16,0 ± 1,13	12,9 ± 0,40 ²	13,5 ± 0,74 ²	16,0 ± 1,37
стНСТ, %	1	35,0 ± 1,04	43,4 ± 1,52 ²	45,2 ± 1,85 ²	34,3 ± 0,88 ³
	2	40,0 ± 2,56 ¹	42,0 ± 1,65	44,5 ± 0,91	37,1 ± 1,44 ³
	3	32,5 ± 1,88	45,1 ± 1,68 ²	45,7 ± 1,34 ²	37,0 ± 1,77 ³
ЦИК, мг/мл	1	0,449 ± 0,048	0,504 ± 0,045	0,590 ± 0,028 ²	0,273 ± 0,031 ^{2,3}
	2	0,417 ± 0,029	0,410 ± 0,048	0,545 ± 0,022 ²	0,268 ± 0,062 ^{2,3}
	3	0,451 ± 0,045	0,513 ± 0,048	0,581 ± 0,013 ²	0,220 ± 0,061 ^{2,3}
БАСК, %	1	89,8 ± 0,54	79,9 ± 1,15 ²	83,4 ± 3,33 ²	80,6 ± 1,16 ²
	2	88,2 ± 0,53 ¹	78,9 ± 1,78 ²	86,1 ± 1,34	78,4 ± 2,60 ^{2,3}
	3	88,4 ± 0,522 ¹	79,6 ± 2,00 ²	86,0 ± 0,43 ²	80,3 ± 0,98 ^{2,3}
ЛАСК, мкг/мл	1	1,79 ± 0,051	1,84 ± 0,052	1,91 ± 0,068	1,94 ± 0,05 ²
	2	1,68 ± 0,031 ¹	1,83 ± 0,036 ²	1,97 ± 0,037 ²	1,74 ± 0,08 ^{1,3}
	3	1,66 ± 0,040 ¹	1,88 ± 0,069 ²	2,1 ± 0,11 ²	1,76 ± 0,07 ^{1,3}
КАСК, %	1	11,2 ± 0,83	9,0 ± 0,77 ²	11,7 ± 0,77	10,3 ± 0,77
	2	10,6 ± 1,11	8,5 ± 1,13	12,7 ± 0,90	7,3 ± 1,28 ^{1,2,3}
	3	9,6 ± 1,32	8,3 ± 0,86	9,2 ± 0,88 ¹	8,6 ± 0,48 ¹
С-реактивный белок, ед	1	1,4 ± 0,22	1,6 ± 0,31	0,4 ± 0,40 ²	0,8 ± 0,25
	2	2,0 ± 0,27 ¹	1,88 ± 0,35	2,3 ± 0,16 ¹	1,6 ± 0,46
	3	1,9 ± 0,46	2,0 ± 0,22	2,4 ± 0,20 ¹	1,2 ± 0,54 ³
IgA, мг/мл	1	0,325 ± 0,003	0,311 ± 0,007 ²	0,370 ± 0,009 ²	0,324 ± 0,003 ³
	2	0,337 ± 0,013	0,290 ± 0,011 ²	0,333 ± 0,009 ¹	0,322 ± 0,003
	3	0,330 ± 0,006	0,310 ± 0,002 ²	0,300 ± 0,004 ^{1,2}	0,321 ± 0,019
IgM, мг/мл	1	5,71 ± 0,055	6,62 ± 0,281 ²	5,74 ± 0,194	3,81 ± 0,095 ^{2,3}
	2	5,80 ± 0,315	6,51 ± 0,353	5,43 ± 0,205	5,10 ± 0,121 ^{1,2}
	3	5,41 ± 0,113 ¹	6,37 ± 0,130 ²	6,40 ± 0,160 ^{1,2}	6,43 ± 0,272 ^{1,2}

Окончание табл. 2

1	2	3	4	5	6
IgG, мг/мл	1	23,6 ± 1,19	17,1 ± 1,09 ²	28,2 ± 1,67 ²	17,9 ± 0,33 ^{2,3}
	2	16,2 ± 1,03 ¹	17,2 ± 0,47	16,7 ± 0,81 ¹	17,5 ± 0,67
	3	18,1 ± 0,66 ¹	17,9 ± 0,43	18,8 ± 0,37 ¹	16,7 ± 0,83 ³

¹ $P < 0,05$ в сравнении с группой здоровых коров

² $P < 0,05$ в сравнении с данными на 150—160 день стельности

³ $P < 0,05$ в сравнении с данными на 260—265 день стельности

У коров первой группы на 210—220 день беременности, отмечено достоверное увеличение В-лимфоцитов на 31,0 %, но снижение фагоцитарной активности нейтрофилов и ФЧ на 9,8 и 13,3 % соответственно. Проведенный НСТ-тест показал, что спонтанный НСТ-тест достоверно снизился на 17,4 %, а стимулированный НСТ-тест увеличился на 24 %. Вместе с этим наблюдалось достоверное снижение IgG и БАСК на 31,4 и 11 % соответственно. У коров с гипохромной анемией отмечалось снижение ФАН, ФЧ и ФИ на 6,2; 14,3 и 9,6 % соответственно. Вместе с этим уменьшился спонтанный НСТ-тест на 19,4 %, а стимулированный НСТ-тест остался без изменения. В результате это нашло отражение в уменьшении БАСК на 10,5 %. У коров с признаками хронического воспаления отмечалось увеличение В-лимфоцитов на 92,2 %. Однако, IgA и IgG снизились на 10,0 и 40,8 % соответственно. Показатели фагоцитарной активности ФАН и ФЧ имели аналогичную динамику, в результате которой снизились на 10,1 и 8,6 % соответственно, спонтанный НСТ-тест достоверно снизился на 19,4 %, а стимулированный НСТ-тест и уровень ЛАСК увеличился на 38,8 и 13,3 % соответственно. В результате данных изменений интегральный показатель БАСК достоверно уменьшился на 10,0 %.

На 260—265 день стельности у коров из первой группы произошло достоверное уменьшение В-лимфоцитов, в результате чего они стали на 20,2 % ниже исходного уровня. Фагоцитарная активность нейтрофилов и НСТ-тест достоверно не изменились, а ФЧ и ФИ снизились на 34,9 и 30,7 % соответственно. Также достоверно снизился уровень С-реактивного белка, БАСК и IgM на 71,4; 7,1 и 5,3 % соответственно. Динамика изменений показателей клеточного иммунитета у коров 2 и 3 группы имела аналогичную тенденцию, что и у животных группы 1. Уровень В-лимфоцитов при этом

уменьшился и достиг исходных значений. При этом С-реактивный белок у коров второй группы возрос на 22,3 % и был в 5,8 раза выше, чем в группе здоровых животных. Вместе с этим отмечалось увеличение ЦИК и ЛАСК на 30,7 и 17,3 % соответственно. У коров из группы 3 наблюдалось повышение иммуноглобулина М и ЦИК на 11,5 и 28,8 %. Иммуноглобулин G при этом увеличился на 12,6 % относительно предыдущих данных, но не имел достоверно значимого отличия в сравнении с показателем здоровых животных. Повышенный уровень циркулирующих иммунных комплексов у коров 2 и 3 группы на 30,7 и 28,8 %, являющихся продуктами реакции антиген-антитело и играющих существенную роль в поддержании гомеостаза, по-видимому связан с воздействием иммунодепрессивных факторов и антигенной нагрузкой на организм.

После отела в клеточном звене иммунной системы коров из группы 1 произошли существенные изменения, характеризующиеся увеличением количества Т- и В-лимфоцитов, фагоцитарной активности клеток, снижением IgA, IgM, IgG и ЦИК. Так, абсолютное количество Т- и В-лимфоцитов достоверно увеличилось на 42,7 и 94,0 %, а ФАН, ФЧ и ФИ возросли на 18,3; 61,1 и 41,4 % соответственно. IgA, IgM, IgG и ЦИК снизились на 12,4; 29,6; 36,5 и 53,7 % относительно значений второй половины триместра беременности. Тенденции изменений в группе 2 были аналогичными, что и в вышеуказанной группе, но они имели разную выраженность.

Так, у данных животных уровень Т- и В-лимфоцитов был достоверно ниже показателей группы 1 на 26,1 и 53,1 %, а ФАН, ЛАСК и КАСК на 29,1; 10,3 и 33,9 % соответственно, а IgM при этом был выше на 33,9 %. При сравнении показателей коров из группы 3, отмечено, что ФАН, Т- и В-лимфоциты также были ниже, чем в группе 1 на 16,0; 21,8 и 27,7 %, а ЛАСК и КАСК

на 9,3 и 16,5 % соответственно. При этом IgM был выше на 68,8 %.

Анализ воспроизводительной способности коров показал, что сервис-период коров из группы 1 составлял $51,8 \pm 6,61$ дней, в то время, как у коров с анемией (группа 2) данный период был продолжительней в 2,7 раза ($140,7 \pm 11,13$ дней, $P < 0,05$). Продолжительность сервис-периода коров с синдромом хронического системного воспаления низкой степени интенсивности (группа 3) составляла $115,0 \pm 12,8$ дней и была достоверно выше показателя здоровых коров в 2,2 раза, но ниже значений коров с анемией (группа 2) на 18,3 % ($P < 0,05$).

В результате проведенных исследований установлено, что цитокиновый профиль здоровых коров в течение изучаемых периодов беременности был относительно стабильным и характеризовался преобладанием противовоспалительных цитокинов. Многие исследователи отмечают, что ИЛ-4 и ИЛ-10 ингибируют реакции клеточного иммунитета, стимулируют синтез прогестерона и хорионического гонадотропина и выработку блокирующих антител [13, 16].

Тем самым это указывает и подтверждает физиологическое течение беременности. В ранний послеродовой период уровень провоспалительных цитокинов снижался, а противовоспалительных увеличивался. Состояние иммунной системы характеризовалось увеличением количества Т- и В-лимфоцитов, фагоцитарной активности, снижением IgA, IgM, IgG, которые вероятнее всего были переданы с молозивом потомству.

В свою очередь, у коров с анемией и синдромом хронического системного воспаления низкой степени интенсивности преобладал уровень провоспалительных цитокинов. Ряд авторов отмечает, что повышение ИЛ-1, ИЛ-2, ФНО α и С-реактивного белка указывает на возможность осложнения беременности и риск развития преэклампсии [14, 15, 17].

При этом отличительной чертой коров с анемией было линейное увеличение ИЛ-4, начиная с 210—220 дня стельности, что вероятнее всего является компенсаторным процессом. Исследования гуморального иммунитета показывают, что, начиная с этого же времени, происходит снижение бактерицидной активности сыворотки крови и иммуноглобулинов, а также снижается активность клеточного иммунитета. Одной из причин изменения состояния иммунной системы, вероятнее всего является усиление процессов перекисного окисления липидов, интенсивность которых усиливается с начала третьего триместра беременности [2].

Отличительной чертой животных с признаками хронического воспаления является сохранение повышенного показателя ИЛ-1 β , ИЛ-2, ФНО α , С-реактивного белка и низких значений ИЛ-4, ИЛ-10. Левкович К. А. с соавторами отмечают, что снижение ИЛ-4 и ИЛ-10 способствует персистирующему воспалению и в зависимости от их концентрации, срока беременности, системных и локальных эффектов, может привести к спектру осложнений [4].

После родов у коров с анемией отмечается сохранение повышенного уровня провоспалительных и снижение противовоспалительных цитокинов, а у коров с синдромом хронического системного воспаления низкой степени интенсивности отмечается выраженное увеличение провоспалительных цитокинов, сопровождающееся уменьшением показателей неспецифической иммунной защиты. Вероятнее всего, данные изменения объясняются осложнениями, возникающими в послеродовой период и, следовательно, активизацией воспалительной реакции [8, 10]. В дальнейшем у таких животных отмечается снижение репродуктивной функции. Таким образом, можно предположить, что повышенный уровень провоспалительных цитокинов и сохранение пониженного иммунного статуса коров после отела увеличивает продолжительность сервис-периода животных, что ведет к прямым экономическим потерям животноводов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что у коров, независимо от клинического состояния, начиная с 210—220 дня стельности, наступает критический период, характеризующийся подавлением клеточного и гуморального иммунитета, а также дисбалансом между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами у животных с сопутствующей патологией, что создает риски осложнения беременности и развития патологий у потомства. У коров без патологий и с нормально протекающей беременностью в ранний послеродовой период наблюдается восстановление иммунологических показателей, но у коров с анемией, наблюдающейся во время беременности, в послеродовой период происходит снижение активности иммунной системы на фоне ранее существующей патологии, что создает риск выбытия или увеличения сервис-периода. Аналогичные тенденции и риски создаются у коров с синдромом хронического системного воспаления низкой степени интенсивности во время беременности.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Бондарев И. В., Михалев В. И. Распространение хронических заболеваний матки у коров и их диагностика // Ветеринарный фармакологический вестник. 2019. № 2 (7). С. 62—67. DOI: 10.17238/issn2541—8203.2019.2.625—7.
2. Востроилова Г. А., Паршин П. А., Жуков М. С., Хохлова Н. А., Шабанов Д. И., Корчагина А. А. Состояние прооксидантно-антиоксидантной системы у коров с разным клиническим состоянием во время беременности // Международный вестник ветеринарии. 2023. № 2. С. 301—311. DOI: 10.52419/issn2072—2419.2023.2.301.
3. Издепский А. В. Изменения некоторых показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты при хронических воспалительных процессах. Вестник донского государственного аграрного университета. 2016. № 3—1 (21). С. 9—13.
4. Левкович К. А., Нефедова Д. Д., Цатурян Л. Д. Иммунологические аспекты, проблемы невынашивания беременности // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 3. С. 186—189.
5. Лопарева Т. С. Лечение КРС с хроническим маститом. Ветеринария сельскохозяйственных животных. 2020. № 3. С. 44—46.
6. Методические рекомендации по оценке и коррекции неспецифической резистентности животных / А. Г. Шахов, Ю. Н. Бригадиров, А. И. Ануфриев и др. // ГНУ ВНИВИПФиТ. — Воронеж: издательство «Истоки». 2005. 62 с.
7. Методические рекомендации по оценке и коррекции иммунного статуса животных / А. Г. Шахов, Ю. Н. Масьянов, М. И. Рецкий и др. // ГНУ ВНИВИПФиТ. — Воронеж: издательство «Истоки». 2005. 56 с.
8. Скориков В. Н., Михалев В. И., Ермолова Т. Г. Некоторые показатели системы ПОЛ-АОЗ у коров с физиологическим и осложненным течением беременности и послеродового периода // Ветеринарный фармакологический вестник. 2021. № 4 (17). С. 54—59. DOI: 10.17238/issn2541—8203.2021.4.54.
9. Скориков В. Н., Нежданов А. Г., Михалев В. И., Волкова И. В., Копытина К. О. Интерлейкин 2, фактор некроза опухолей и половые стероиды в крови беременных коров // Ветеринария. 2020. № 6. С. 10—13.
10. Скориков В. Н., Чусова Г. Г., Адодина М. И. Биохимические и гормональные показатели крови у молочных коров в последнем триместре беременности с физиологическим и осложненным течением послеродового периода // Ветеринарный фармакологический вестник. 2019. № 4 (9). С. 110—113. DOI: 10.17238/issn2541—8203.2019.4.110.
11. Шкуратова И. А., Верещак Н. А., Ряпосова М. В., Бордова О. С. Коррекция иммунного статуса у высокопродуктивных коров // Ветеринария. 2008. № 2. С. 11—12.
12. Alekhin Y., Zhukov M., Morgunova V., Dronova Y. The effect of the red blood cell system disorders on the further development and productivity of holstein calves that had had bronchopneumonia // Veterinarski Arhiv. 2021. Vol. 91 (5). P. 473—481. DOI: 10.24099/VET.ARHIV.1079.
13. Chatterjee P., Chiasson V. L., Bounds K. R., Mitchell B. M. Regulation of the Anti-Inflammatory Cytokines Interleukin-4 and Interleukin-10 during Pregnancy // Front Immunol. 2014. 5. P. 253. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00253.
14. Grgic G., Skokic F., Bogdanovic G. C-reactive protein as a biochemical marker of idiopathic preterm delivery // Med Arh. 2010. Vol. 64 (3). P. 132—134.
15. Guleria I., Pollard J. W. The trophoblast is a component of the innate immune system during pregnancy. Nat Med. 2000. Vol. 6(5). P. 589—593. DOI: 10.1038/75074.
16. Pantaleo M., Piccinno M., Roncetti M., Mutinati M., Rizzo A., Sciorsci R. L., M. Pantaleo. Evaluation of serum concentrations of interleukin (IL)-4, IL-10, and IL-12 during pregnancy in bitches // Theriogenology. 2013. Vol. 79 (6). P. 970—973. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2013.01.017.
17. Wei S. Q., Fraser W., Luo Z. C. Inflammatory cytokines and spontaneous preterm birth in asymptomatic women: a systematic review // Obstet Gynecol. 2012. Vol. 116 (2). P. 393—401. DOI: 10.1097/AOG.0b013e3181e6dbc0.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

- П. А. Паршин** — доктор биологических наук, директор ФГБНУ «ВНИВИПФиТ»;
Г. А. Востроилова — доктор биологических наук, главный научный сотрудник;
Ю. Н. Бригадиров — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник;
И. Т. Шапошников — доктор биологических наук, главный научный сотрудник;
М. С. Жуков — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник;
Л. Ю. Сашнина — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник;
К. О. Акулова — младший научный сотрудник;
О. В. Якимчук — ветеринарный врач ЗАО «Юдановские просторы».

Статья поступила в редакцию 19.07.2023 г.

IMMUNE STATUS OF COWS WITH VARIOUS DURATION OF GESTATION AND IN THE EARLY POSTPARTUM PERIOD

Pavel Andreevich Parshin*, Galina Anatolyevna Vostroilova*, Yuriy Nikolaevich Brigadirov*, Ivan Tikhonovich Shaposhnikov*, Maksim Sergeevich Zhukov*✉, Larisa Yuryevna Sashnina*, Kristina Olegovna Akulova*, Oleg Valerievich Yakimchuk**

*All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia, maxim.zhukoff2015@yandex.ru✉

**Yudanovskie prostory, Voronezh region, Russia

Abstract. The objective of the work was to study the immune system of cows with anemia syndrome and chronic systemic inflammation during gestation and in the early postpartum period. To achieve this goal, the dynamics of immunological indicators of healthy cows ($n = 15$), with anemia syndrome ($n = 8$) and chronic systemic inflammation of low intensity ($n = 7$) was studied. On days 150—160, 210—220 and 260—265 of gestation and one week after calving, blood samples were taken from the studied groups of animals. The content of pro-inflammatory (IL-1 β , IL-2, TNF- α and IFN- γ) and anti-inflammatory (IL-4, IL-10) cytokines, as well as the indicators of cellular (the number of T- and B-lymphocytes, PAN, PhN, PhI, and NBT test) and humoral immunity (IgM, IgA, IgG, SCA, SBA, SLA and CIC). It has been established that in cows, regardless of the clinical state, starting from days 210—220 of gestation, a critical period begins, characterized by the suppression of cellular and humoral immunity, as a result of which PAN decreased by 6.2—10 %, spontaneous NBT test — by 17.4—19.4 % and SBA — by 10 % ($P < 0.05$). In cows with concomitant pathology, there is also an imbalance between pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines, which creates the risk of gestational complications and the development of pathologies in the offspring. In cows with a normal gestation in the early postpartum period, there is a restoration of immunological indicators, but in animals with anemia observed during gestation, a decrease in the activity of the immune system occurs in the postpartum period. The level of T- and B-lymphocytes was significantly lower than in healthy ones by 26.1 and 53.1 %, and PAN, SLA and SCA — by 29.1, 10.3 and 33.9 %, respectively. Against the background of the existing pathology, this creates a risk of culling or impaired reproductive ability. When analyzing the service period of these animals, its increase by 2.7 times was observed. Similar trends and risks were appeared in cows with low intensity chronic systemic inflammation syndrome.

Keywords: cows, gestation, anemia, chronic inflammation, cytokines, humoral and cellular immunity, early postpartum period, service period

INTRODUCTION

One of the main tasks of modern cattle breeding is to maintain productive longevity and increase the fertility of cows. However, under conditions of industrial production technology, for various reasons (technological, environmental, epizootological), immunodeficiencies and metabolic disorders develop in animals. Violation of the immune status is expressed in the suppression of the humoral and cellular immunity [11].

Gestation, calving and the postpartum period are the most difficult in the process of dairy cattle exploitation. At present, there is a clear understanding that the formation and course of gestation, accompanied by a

specific morphological and homeostatic restructuring of the maternal organism, is largely determined by the state of both endocrine and immune systems (in particular, cytokines).

Cytokines regulate all stages of the gestational process from blastocyst implantation to the mechanism of calving [9].

Moreover, during gestation, the significance of certain factors changes, which is due to the peculiarities of the stages of placenta formation, changes in the population composition of cells producing cytokines in the dynamics of the gestational process, and the presence of concomitant pathological state in pregnant cows.

© Parshin P. A., Vostroilova G. A., Brigadirov Yu. N., Shaposhnikov I. T., Zhukov M. S., Sashnina L. Yu., Akulova K. O., Yakimchuk O. V., 2023

Anemia is one of the most common pathologies [12]. At the same time, chronic diseases of the limbs, uterus, mammary gland, etc. are quite widespread among cows [1, 3, 5]. It should be noted that the effect of anemia and chronic inflammatory processes on the state of the immune system of pregnant cows during gestation and after calving has not been studied.

The objective of the work was to study the immune status of cows with anemia syndrome and chronic systemic inflammation during gestation and in the early postpartum period.

MATERIAL AND METHODS

The work was carried out in the spring-summer period of 2022 in the conditions of a livestock complex located in Voronezh region, taking into account the requirements of the Bioethical Commission of FSBSI “ARVRIPP&T”. The study included Red-Motley (holsteinized) cows of 2—3 lactations and a gestation period of 150—160 days. The animals underwent a comprehensive clinical and laboratory examination, as a result of which they were divided into 3 groups: group 1 ($n = 15$) — healthy cows; group 2 ($n = 8$) — cows with hypochromic microcytic anemia; group 3 ($n = 7$) — cows with chronic systemic inflammation syndrome of low intensity. The cows were tethered and received a complete diet. After calving, the time to successful insemination of all cows involved in the study was recorded. On days 150—160, 210—220 and 260—265 of gestation and a week after calving, blood samples were taken from the tail vein of animals using a vacuum system into test tubes with a blood clotting activator SiO_2 and EDTA (Chengdu Puth Medical Plastics Packaging Co., Ltd., China). The following were determined in blood serum: interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-2 (IL-2), interleukin-4 (IL-4), interleukin-10 (IL-10), tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), interferon-gamma (IFN- γ), in accordance with approved guidelines for diagnostic kits (VECTOR-BEST, Russia), immunoglobulin M (IgM), immunoglobulin A (IgA), immunoglobulin G (IgG) in accordance with approved guidelines for test systems from Cloud-Clone Corp., USA), enzyme immunoassay. The level of complementary (SCA), bactericidal (SBA) and lysozyme (SLA) activity of blood serum, phagocytic activity of neutrophils (PAN), phagocytic number (PhN), phagocytic index (PhI) were determined and the NBT test was performed according to the methodical recommendations [6]. The number of T- and B-lymphocytes, circulating immune complexes (CIC) was determined in accordance with the methodical recommendations [7]. When performing laboratory studies, a KFK-3 photoelectr-

ocolorimeter (Russia), an AIFR-01 UNIPLANtm enzyme immunoassay analyzer (CJSC “PIKON”, Russia) and a Micromed 3 U3 microscope (“Nablyudatelnye pribory” Ltd., Russia) were used.

The obtained material was subjected to statistical processing in the Statistica v6.1 software package. The arithmetic mean (M) and standard error of the mean (SE) were calculated. The significance of differences between the samples was assessed using the nonparametric Mann-Whitney test. When testing statistical hypotheses, a 5 % significance level was used: 1 — $P < 0.05$, in comparison with the group of healthy cows; 2 — $P < 0.05$, in comparison with the data on days 150—160 of gestation; 3 — $P < 0.05$, in comparison with the data on days 260—265 of gestation.

STUDY RESULTS

The study of the cytokine profile of cows showed that in the animals from group 2 with a gestational age of 150—160 days, the amount of IL-1 β , IL-2 and TNF- α was increased by 59.4 %, 50.0 % and 84.6 %, respectively. The level of anti-inflammatory IL-4 did not differ significantly, and IL-10 was by 42.2 % lower than in the group of healthy animals. In group 3, the level of IL-1 β was by 2 times higher than in healthy animals, and TNF- α and IL-2 were increased by 88.5 and 81.3 %, respectively. The content of anti-inflammatory interleukins was reduced: IL-4 — by 27.3 %, and IL-10 — by 39.1 %. In a repeated blood test in the cows with a gestation of 210—220 days in group 1, there was a significant increase in IL-2 by 6.3 % and IL-4 — by 2.5 times, while maintaining the relative stability of other indicators. In group 2, the level of TNF- α did not change significantly, and the level of IL-1 β increased and was by 90 % higher than in group 1. An increase in the level of IL-4 by 2.2 times was also noted, compared to that in healthy animals. The indicators of IL-2, IL-10 and IFN- γ did not change significantly. In group 3, the previously formed cytokine profile was preserved, which did not undergo any significant changes (Table 1).

On days 260—265 of gestation in the cows from group 1, there was a decrease in the amount of IL-2 by 15.6 % and IL-4 — to the initial level and IFN- γ — by 15.6 %. At the same time, in group 2, an increase in IL-1 β and TNF- α was observed, which were by 2.1 and 2 times higher than in the cows from group 1. At the same time, an increase in IL-4 was noted, the level of which became higher by 9.6 times relative to the cows from the comparison group, and IL-2 remained unchanged. In group 3, an increased level of pro-inflammatory and a low level of anti-inflammatory cytokines remained.

Table 1

Cytokine profile of cows with various clinical states during gestation and after calving

Indicators	Group	Gestation, days			After calving
		150—160	210—220	260—265	
IL-1 β , pg/ml	1	3.2 \pm 0.16	3.0 \pm 0.25	2.9 \pm 0.09	2.6 \pm 0.10 ^{2,3}
	2	5.1 \pm 0.17 ¹	5.7 \pm 0.301 ^{1,2}	6.1 \pm 0.25 ^{1,2}	5.8 \pm 0.27 ¹
	3	6.6 \pm 0.47 ¹	6.5 \pm 0.22 ¹	5.9 \pm 0.08 ^{1,2}	15.2 \pm 2.28 ^{1,3}
IL-2, pg/ml	1	3.2 \pm 0.17	3.4 \pm 0.20	2.7 \pm 0.22 ²	3.0 \pm 0.17
	2	4.8 \pm 0.15 ¹	4.7 \pm 0.03 ¹	4.6 \pm 0.17 ¹	4.5 \pm 0.09 ¹
	3	5.8 \pm 0.19 ¹	6.0 \pm 0.30 ¹	5.4 \pm 0.04 ^{1,2}	5.5 \pm 0.07 ¹
IL-4, pg/ml	1	2.2 \pm 0.25	5.4 \pm 0.74 ²	2.1 \pm 0.43	4.1 \pm 0.25 ^{2,3}
	2	2.3 \pm 0.48	11.7 \pm 0.47 ^{1,2}	20.2 \pm 2.95 ^{1,2}	5.1 \pm 0.95 ^{2,3}
	3	1.6 \pm 0.20	3.7 \pm 1.02 ²	1.8 \pm 0.18	5.2 \pm 1.46 ^{2,3}
IL-10, pg/ml	1	6.4 \pm 0.03	7.0 \pm 1.01	6.8 \pm 0.47	7.8 \pm 0.93
	2	3.7 \pm 0.15 ¹	4.2 \pm 0.42 ^{1,2}	3.9 \pm 0.30 ¹	4.5 \pm 0.15 ^{1,3}
	3	3.9 \pm 0.42 ¹	4.2 \pm 0.35 ¹	4.0 \pm 0.39 ¹	4.4 \pm 0.55 ¹
TNF- α , pg/ml	1	2.6 \pm 0.06	2.7 \pm 0.13	2.6 \pm 0.05	2.2 \pm 0.02 ^{1,2,3}
	2	4.8 \pm 0.18 ¹	4.7 \pm 0.12 ¹	5.2 \pm 0.24 ^{1,2}	4.6 \pm 0.06 ^{1,3}
	3	4.9 \pm 0.37 ¹	4.7 \pm 0.06 ¹	4.9 \pm 0.21 ¹	5.5 \pm 0.27 ^{1,3}
IFN- γ , pg/ml	1	4.4 \pm 0.28	4.5 \pm 0.40	3.8 \pm 0.05 ²	3.9 \pm 0.06
	2	4.4 \pm 0.28	4.4 \pm 0.21	3.9 \pm 0.08	4.1 \pm 0.12
	3	4.0 \pm 0.05	4.2 \pm 0.12	4.0 \pm 0.09	4.7 \pm 0.20 ^{1,2,3}

¹ $P < 0.05$, in comparison with the group of healthy cows² $P < 0.05$, in comparison with the data on days 150—160 of gestation³ $P < 0.05$, in comparison with the data on days 260—265 of gestation

The cytokine profile of the cows from group 1 after calving was characterized by a decrease in pro-inflammatory and an increase in anti-inflammatory cytokines. Thus, the amount of IL-1 β and TNF- α in these animals decreased by 10.3 and 15.4 %, respectively, and the amount of IL-4 and IL-10 increased by 95.2 and 14.7 %. In the cows from group 2, an increased level of pro-inflammatory cytokines and a decrease in the content of anti-inflammatory cytokines were noted. IL-1 β and TNF- α were by 2.2 and 2.1 times higher, compared to those of cows from group 1. IL-10 was lower by 42.3 %, and IL-4 did not have a significant

difference. It was also noted that a high level of IL-2 was maintained, the amount of which was by 50.0 % higher than in the cows from group 1. In the animals from group 3, there was an activation of the production of pro-inflammatory cytokines. IL-1 β and TNF- α were by 5.9 and 2.5 times higher than in the cows from group 1. At the same time, an increase in IL-4 (by 2.9 times) and IL-10 (by 10.0 %) was observed, however, the amount of IL-4 did not significantly differ from that of the cows from group 1, and IL-10 was lower by 43.6 %. IL-2 did not change, but was higher than the level of healthy animals by 83.3 %, and INF- γ in-

creased by 17.5 % and was higher by 20.5 % than the control group.

Immunological studies showed that in the cows from group 2, the content of C-reactive protein was significantly higher by 1.4 times and IgM — by 15.9 %, and the indicators of SBA, SLA, SCA, IgA and IgG were lower by 1.8, 6.1, 19.6, 4.3 and 27.5 %, respectively, compared with the group of healthy animals. In the cows with signs of chronic inflammation, minor immunological abnormalities were revealed in the form of a decrease in SBA and SLA by 1.6 and 7.3 %, respectively, and an increase in the amount of immunoglobulin A and G by 15.6 and 19.5 %. The study of T- and B-lymphocytes showed that the absolute number of T- and B-lymphocytes had a significant intergroup difference. Thus, the number of T-lymphocytes in groups 2 and 3 was by 26.9 and 22.3 % lower than in group 1, and B-lymphocytes were lower by 23.8 %, respectively. The NBT test showed that in the cows from group 2, the spontaneous NBT test did not significantly differ from healthy animals, and the stimulated NBT test was higher by 14.3 % (Table 2).

In the cows from group 1 on days 210—220 of gestation, there was a significant increase in B-lymphocytes by 31.0 %, but a decrease in the phagocytic activity of neutrophils and PhN by 9.8 and 13.3 %, respectively. The conducted NBT test showed that the spontaneous NBT test significantly decreased by 17.4 %, and the stimulated NBT test increased by 24 %. At the same time, there was a significant decrease in IgG and SBA by 31.4 and 11 %, respectively. In the cows with hypochromic anemia, there was a decrease in PAN, PhN and PhI by 6.2, 14.3 and 9.6 %, respectively. At the same time, the spontaneous NBT test decreased by 19.4 %, while the stimulated NBT test remained unchanged. As a result, this was reflected in a 10.5 % decrease in SBA. The cows with signs of chronic inflammation showed an increase in B-lymphocytes

by 92.2 %. However, IgA and IgG decreased by 10.0 and 40.8 %, respectively. The indicators of phagocytic activity of PAN and PhN had similar dynamics, as a result of which they decreased by 10.1 and 8.6 %, respectively, the spontaneous NBT test significantly decreased by 19.4 %, and the stimulated NBT test and the level of SLA increased by 38.8 and 13.3 % respectively. As a result of these changes, the integral indicator of SBA significantly decreased by 10.0 %.

On days 260—265 of gestation in the cows from group 1, there was a significant decrease in B-lymphocytes, as a result of which they became by 20.2 % lower than the initial level. The phagocytic activity of neutrophils and the NBT test did not change significantly, while PhN and PhI decreased by 34.9 and 30.7 %, respectively. The level of C-reactive protein, SBA and IgM also significantly decreased by 71.4, 7.1 and 5.3 %, respectively. The dynamics of changes in the indicators of cellular immunity in the cows from groups 2 and 3 had a similar trend as in the animals from group 1. The level of B-lymphocytes decreased and reached the initial values. At the same time, C-reactive protein in the cows from group 2 increased by 22.3 % and was by 5.8 times higher than in the group of healthy animals. At the same time, there was an increase in the CIC and SLA by 30.7 and 17.3 %, respectively. In the cows from group 3, there was observed an increase in immunoglobulin M and CIC by 11.5 and 28.8 %. Immunoglobulin G at the same time increased by 12.6 % relative to the previous data, but did not have a significant difference, in comparison with healthy animals. An increased level of circulating immune complexes in the cows from groups 2 and 3 by 30.7 and 28.8 %, which are products of the antigen-antibody reaction and play a significant role in maintaining homeostasis, is apparently associated with the effect of immunosuppressive factors and antigenic load on the body.

Table 2

Indicators of cellular and humoral immunity in cows with various clinical states during gestation and after calving

Indicators	Group	Gestation, days			After calving
		150—160	210—220	260—265	
1	2	3	4	5	6
T-lymphocytes, 10 ⁹ /L	1	1.75 ± 0.071	1.74 ± 0.088	1.64 ± 0.101	2.34 ± 0.066 ³
	2	1.28 ± 0.092 ¹	1.46 ± 0.073 ^{1,2}	1.51 ± 0.058 ²	1.73 ± 0.108 ^{1,3}
	3	1.36 ± 0.126 ¹	1.59 ± 0.118	1.49 ± 0.038	1.83 ± 0.177 ^{1,3}

Table 2 (continued)

1	2	3	4	5	6
B-lymphocytes, 10 ⁹ /L	1	0.84 ± 0.046	1.10 ± 0.07 ²	0.67 ± 0.083 ²	1.30 ± 0.114 ³
	2	0.64 ± 0.049 ¹	0.98 ± 0.050 ²	0.61 ± 0.061	0.61 ± 0.062 ¹
	3	0.64 ± 0.047 ¹	1.23 ± 0.134 ²	0.56 ± 0.038	0.94 ± 0.094 ^{1,2,3}
PAN, %	1	82.3 ± 0.97	74.2 ± 0.81 ²	77.2 ± 0.49 ²	91.3 ± 0.67 ^{2,3}
	2	81.0 ± 1.0	76.0 ± 1.56 ²	76.3 ± 0.70 ²	73.4 ± 2.51 ^{1,2}
	3	83.3 ± 1.13	74.9 ± 1.57 ²	77.1 ± 0.74 ²	76.7 ± 4.08 ^{1,2}
PhN, U	1	8.3 ± 0.21	7.2 ± 0.13 ²	5.4 ± 0.18 ²	8.7 ± 0.39 ³
	2	8.4 ± 0.17	7.2 ± 0.20 ²	5.7 ± 0.24 ²	7.7 ± 0.65 ³
	3	8.1 ± 0.08	7.4 ± 0.12 ²	5.6 ± 0.26 ²	8.4 ± 0.59 ³
PhI, U	1	10.1 ± 0.27	10.4 ± 0.18	9.8 ± 0.15	9.9 ± 0.27
	2	9.6 ± 0.15	9.4 ± 0.27 ²	9.9 ± 0.32	9.4 ± 0.43
	3	7.0 ± 0.27 ¹	7.5 ± 0.33 ¹	7.2 ± 0.34 ¹	9.9 ± 0.34
spNBT, %	1	17.2 ± 0.80	14.2 ± 0.87 ²	14.8 ± 1.10 ²	15.8 ± 1.22
	2	18.0 ± 1.36	14.5 ± 0.98 ²	15.3 ± 0.53 ²	16.4 ± 1.15
	3	16.0 ± 1.13	12.9 ± 0.40 ²	13.5 ± 0.74 ²	16.0 ± 1.37
stNBT, %	1	35.0 ± 1.04	43.4 ± 1.52 ²	45.2 ± 1.85 ²	34.3 ± 0.88 ³
	2	40.0 ± 2.56 ¹	42.0 ± 1.65	44.5 ± 0.91	37.1 ± 1.44 ³
	3	32.5 ± 1.88	45.1 ± 1.68 ²	45.7 ± 1.34 ²	37.0 ± 1.77 ³
CIC, mg/ml	1	0.449 ± 0.048	0.504 ± 0.045	0.590 ± 0.028 ²	0.273 ± 0.031 ^{2,3}
	2	0.417 ± 0.029	0.410 ± 0.048	0.545 ± 0.022 ²	0.268 ± 0.062 ^{2,3}
	3	0.451 ± 0.045	0.513 ± 0.048	0.581 ± 0.013 ²	0.220 ± 0.061 ^{2,3}
SBA, %	1	89.8 ± 0.54	79.9 ± 1.15 ²	83.4 ± 3.33 ²	80.6 ± 1.16 ²
	2	88.2 ± 0.53 ¹	78.9 ± 1.78 ²	86.1 ± 1.34	78.4 ± 2.60 ^{2,3}
	3	88.4 ± 0.522 ¹	79.6 ± 2.00 ²	86.0 ± 0.43 ²	80.3 ± 0.98 ^{2,3}
SLA, µg/ml	1	1.79 ± 0.051	1.84 ± 0.052	1.91 ± 0.068	1.94 ± 0.05 ²
	2	1.68 ± 0.031 ¹	1.83 ± 0.036 ²	1.97 ± 0.037 ²	1.74 ± 0.08 ^{1,3}
	3	1.66 ± 0.040 ¹	1.88 ± 0.069 ²	2.1 ± 0.11 ²	1.76 ± 0.07 ^{1,3}
SCA, %	1	11.2 ± 0.83	9.0 ± 0.77 ²	11.7 ± 0.77	10.3 ± 0.77
	2	10.6 ± 1.11	8.5 ± 1.13	12.7 ± 0.90	7.3 ± 1.28 ^{1,2,3}
	3	9.6 ± 1.32	8.3 ± 0.86	9.2 ± 0.88 ¹	8.6 ± 0.48 ¹

Table 2 (the end)

1	2	3	4	5	6
C-reactive protein, U	1	1.4 ± 0.22	1.6 ± 0.31	0.4 ± 0.40 ²	0.8 ± 0.25
	2	2.0 ± 0.27 ¹	1.88 ± 0.35	2.3 ± 0.16 ¹	1.6 ± 0.46
	3	1.9 ± 0.46	2.0 ± 0.22	2.4 ± 0.20 ¹	1.2 ± 0.54 ³
IgA, mg/ml	1	0.325 ± 0.003	0.311 ± 0.007 ²	0.370 ± 0.009 ²	0.324 ± 0.003 ³
	2	0.337 ± 0.013	0.290 ± 0.011 ²	0.333 ± 0.009 ¹	0.322 ± 0.003
	3	0.330 ± 0.006	0.310 ± 0.002 ²	0.300 ± 0.004 ^{1,2}	0.321 ± 0.019
IgM, mg/ml	1	5.71 ± 0.055	6.62 ± 0.281 ²	5.74 ± 0.194	3.81 ± 0.095 ^{2,3}
	2	5.80 ± 0.315	6.51 ± 0.353	5.43 ± 0.205	5.10 ± 0.121 ^{1,2}
	3	5.41 ± 0.113 ¹	6.37 ± 0.130 ²	6.40 ± 0.160 ^{1,2}	6.43 ± 0.272 ^{1,2}
IgG, mg/ml	1	23.6 ± 1.19	17.1 ± 1.09 ²	28.2 ± 1.67 ²	17.9 ± 0.33 ^{2,3}
	2	16.2 ± 1.03 ¹	17.2 ± 0.47	16.7 ± 0.81 ¹	17.5 ± 0.67
	3	18.1 ± 0.66 ¹	17.9 ± 0.43	18.8 ± 0.37 ¹	16.7 ± 0.83 ³

¹ $P < 0.05$, in comparison with the group of healthy cows

² $P < 0.05$, in comparison with the data on days 150—160 of gestation

³ $P < 0.05$, in comparison with the data on days 260—265 of gestation

After calving, significant changes occurred in the cellular link of the immune system of the cows from group 1, characterized by an increase in the number of T- and B-lymphocytes, phagocytic activity of cells, a decrease in IgA, IgM, IgG and CIC. Thus, the absolute number of T- and B-lymphocytes significantly increased by 42.7 and 94.0 %, and PAN, PhN and PhI increased by 18.3, 61.1 and 41.4 % respectively. IgA, IgM, IgG and CIC decreased by 12.4, 29.6, 36.5 and 53.7 % relative to the values of the second half of the gestation trimester. The trends of changes in group 2 were similar to those in the above group, but they had different severity. Thus, in these animals, the level of T- and B-lymphocytes was significantly lower than in group 1 by 26.1 and 53.1 %, and PAN, SLA and SCA — by 29.1, 10.3 and 33.9 %, respectively, while IgM was higher by 33.9 %. When comparing the indicators of the cows from group 3, it was noted that PAN, T- and B-lymphocytes were also lower than in group 1 by 16.0, 21.8 and 27.7 %, and SLA and SCA — by 9.3 and 16.5 %, respectively. At the same time, IgM was higher by 68.8 %.

The analysis of the reproductive ability of cows showed that the service period of the cows from group

1 was 51.8 ± 6.61 days, while in the cows with anemia (group 2) this period was by 2.7 times longer (140.7 ± 11.13 days, $P < 0.05$). The duration of the service period of the cows with chronic systemic inflammation of low intensity (group 3) was 115.0 ± 12.8 days and was significantly higher than that of healthy cows by 2.2 times, but lower than the values of cows with anemia (group 2) by 18.3 % ($P < 0.05$).

As a result of the studies, it was found that the cytokine profile of healthy cows during the studied periods of gestation was relatively stable and was characterized by a predominance of anti-inflammatory cytokines. Many researchers note that IL-4 and IL-10 inhibit cellular immunity reactions, stimulate the synthesis of progesterone and human chorionic gonadotropin and the production of blocking antibodies [13, 16]. Thus, it indicates and confirms the physiological course of gestation. In the early postpartum period, the level of pro-inflammatory cytokines decreased, while that of anti-inflammatory ones increased. The state of the immune system was characterized by an increase in the number of T- and B-lymphocytes, phagocytic activity, a decrease in IgA, IgM, IgG, which were most likely transferred to the offspring with colostrum.

In turn, in cows with anemia and chronic systemic inflammation syndrome of low intensity, the level of pro-inflammatory cytokines prevailed. A number of authors note that an increase in IL-1, IL-2, TNF- α , and C-reactive protein indicates the possibility of gestation complications and the risk of preeclampsia [14, 15, 17]. At the same time, a distinctive feature of the cows with anemia was a linear increase in IL-4, starting from days 210—220 of gestation, which is most likely a compensatory process. The studies of humoral immunity show that, starting from the same time, there is a decrease in the serum bactericidal activity and immunoglobulins, and the activity of cellular immunity also decreases. One of the reasons for the change in the state of the immune system, most likely, is the intensification of lipid peroxidation processes, the intensity of which increases from the beginning of the third trimester of gestation [2].

A distinctive feature of animals with signs of chronic inflammation is the maintenance of elevated levels of IL-1 β , IL-2, TNF- α , C-reactive protein and low values of IL-4, IL-10. Levkovich K. A. et al. note that a decrease in IL-4 and IL-10 contributes to persistent inflammation and, depending on their concentration, gestational age, systemic and local effects, can lead to a range of complications [4].

After calving, cows with anemia maintain an increased level of pro-inflammatory cytokines and a decrease in anti-inflammatory cytokines, and cows with chronic systemic inflammation syndrome of low intensity show a pronounced increase in pro-inflammatory cytokines, accompanied by a decrease in nonspecific immune defense. These changes are most likely explained by complications that occur in the postpartum period and, consequently, by the activation of the inflammatory response [8, 10]. In the future, such animals show a decrease in reproductive function. Thus, it can be assumed that an increased level of pro-inflammatory cytokines and the persistence of a reduced immune status of cows after calving increase the duration of the service period of animals, which leads to direct economic losses for livestock breeders.

CONCLUSION

The conducted studies have shown that in cows, regardless of the clinical state, starting from days 210—220 of gestation, a critical period occurs, characterized by the suppression of cellular and humoral immunity, as well as an imbalance between pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in animals with comorbidities, which creates the risks of gestation complications and the development of pathologies in the

offspring. In cows without pathologies and with a normal gestation in the early postpartum period, there is a recovery of immunological indicators, but in cows with anemia observed during gestation, in the postpartum period, there is a decrease in the activity of the immune system against the background of a pre-existing pathology, which creates a risk of culling or increase in service period. Similar trends and risks appear in cows chronic systemic inflammation of low intensity during gestation.

REFERENCES

1. *Bondarev I. V., Mikhalev V. I.* Spread of chronic uterine diseases in cows and their diagnosis // *Bulletin of Veterinary Pharmacology*. 2019. No. 2 (7). P. 62—67. DOI: 10.17238/issn2541—8203.2019.2.625—7.
2. *Vostroilova G. A., Parshin P. A., Zhukov M. S., Khokhlova N. A., Shabanov D. I., Korchagina A. A.* State of the prooxidant-antioxidant system in cows with different clinical state during gestation // *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii (International Bulletin of Veterinary Medicine)*. 2023. No. 2. P. 301—311. DOI: 10.52419/issn2072—2419.2023.2.301.
3. *Izdepskiy A. V.* Changes in some indicators of lipid peroxidation and antioxidant protection in chronic inflammatory processes. *Vestnik donskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Bulletin of Don State Agrarian University)*. 2016. No. 3—1 (21). P. 9—13.
4. *Levkovich K. A., Nefedova D. D., Tsaturyan L. D.* Immunological aspects, problems of miscarriage // *Modern problems of science and education (Modern problems of science and education)*. 2016. No.3. P. 186—189.
5. *Lopareva T. S.* Treatment of cattle with chronic mastitis. *Veterinariya selskokhozyaystvennykh zhivotnykh (Veterinary of farm animals)*. 2020. No. 3. P. 44—46.
6. *Methodical recommendations for the evaluation and correction of nonspecific animal resistance / A. G. Shakhov, Yu.N. Brigadirov, A. I. Anufriev et al. // GNU VNIVIPFiT (SSI ARVRIPP&T). — Voronezh: publishing house “Istoki”. 2005. 62 p.*
7. *Methodical recommendations for assessing and correcting the immune status of animals / A. G. Shakhov, Yu.N. Masyanov, M. I. Retskiy et al. // GNU VNIVIPFiT (SSI ARVRIPP&T). — Voronezh: publishing house “Istoki”. 2005. 56 p.*
8. *Skorikov V. N., Mikhalev V. I., Ermolova T. G.* Some indicators of the LPO-AOD system in cows with physiological and complicated course of gestation and postpartum period // *Bulletin of Veterinary Pharmacology*. 2021. No. 4 (17). P. 54—59. DOI: 10.17238/issn2541—8203.2021.4.54.
9. *Skorikov V. N., Nezhdanov A. G., Mikhalev V. I., Volkova I. V., Kopytina K. O.* Interleukin 2, tumor necrosis factor and sex steroids in the blood of pregnant cows // *Veterinariya (Veterinary medicine)*. 2020. No. 6. P. 10—13.
10. *Skorikov V. N., Chusova G. G., Adodina M. I.* Biochemical and hormonal blood indicators in dairy cows in

the last trimester of gestation with physiological and complicated postpartum period // *Bulletin of Veterinary Pharmacology*. 2019. No. 4 (9). P. 110—113. DOI: 10.17238/issn2541—8203.2019.4.110.

11. *Shkuratova I. A., Vereshchak N. A., Ryaposova M. V., Bordova O. S.* Correction of the immune status in high yielding cows // *Veterinariya (Veterinary medicine)*. 2008. No. 2. P. 11—12.

12. *Alekhin Y., Zhukov M., Morgunova V., Dronova Y.* The effect of the red blood cell system disorders on the further development and productivity of holstein calves that had had bronchopneumonia // *Veterinarski Arhiv*. 2021. Vol. 91 (5). P. 473—481. DOI: 10.24099/VET.ARHIV.1079.

13. *Chatterjee P., Chiasson V. L., Bounds K. R., Mitchell B. M.* Regulation of the Anti-Inflammatory Cytokines Interleukin-4 and Interleukin-10 during Pregnancy // *Front Immunol*. 2014. 5. P. 253. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00253.

14. *Grgic G., Skokic F., Bogdanovic G.* C-reactive protein as a biochemical marker of idiopathic preterm delivery // *Med Arh*. 2010. Vol. 64 (3). P. 132—134.

15. *Guleria I., Pollard J. W.* The trophoblast is a component of the innate immune system during pregnancy. *Nat Med*. 2000. Vol. 6(5). P. 589—593. DOI: 10.1038/75074.

16. *Pantaleo M., Piccinno M., Roncetti M., Mutinati M., Rizzo A., Sciorsci R. L., M. Pantaleo.* Evaluation of serum concentrations of interleukin (IL)-4, IL-10, and IL-12 during pregnancy in bitches // *Theriogenology*. 2013. Vol. 79 (6). P. 970—973. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2013.01.017.

17. *Wei S. Q., Fraser W., Luo Z. C.* Inflammatory cytokines and spontaneous preterm birth in asymptomatic women: a systematic review // *Obstet Gynecol*. 2012. Vol. 116 (2). P. 393—401. DOI: 10.1097/AOG.0b013e3181e6dbc0.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

P. A. Parshin — Doctor of Biological Sciences, Director;

G. A. Vostroilova — Doctor of Biological Sciences, Chief Scientific Associate;

Yu. N. Brigadirov — Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate;

I. T. Shaposhnikov — Doctor of Biological Sciences, Chief Scientific Associate;

M. S. Zhukov — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Scientific Associate;

L. Yu. Sashnina — Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate;

K. O. Akulova — Junior Scientific Associate;

O. V. Yakimchuk — Veterinarian of CJSC “Yudanovskie prostory”.

The article was submitted 19.07.2023.

СРЕДСТВА ЗООГИГИЕНЫ, ДЕЗИНФЕКЦИИ, ДЕЗИНСЕКЦИИ И ДЕРАТИЗАЦИИ

Научная статья

УДК 619:615.9:636.5

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2023.3.81

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВЫХ МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ДЕТОКСИКАЦИИ Т-2 ТОКСИНА, АФЛАТОКСИНА В₁ И ЗЕАРАЛЕНОНА

Лилия Евгеньевна Матросова*, Николай Александрович Балакирев**,
Евгения Юрьевна Тарасова*✉, Марина Александровна Ерохондина*,
Михаил Иванович Канин***

*Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности,
Казань, Республика Татарстан, evgenchka1885@gmail.com✉

**Московская государственная академия ветеринарной медицины
и биотехнологии — МВА имени К. И. Скрябина, Москва, Россия

***Галлуазит-Урал, Южноуральск, Россия

Аннотация. В данной статье представлены результаты оценки детоксицирующей способности трех многокомпонентных средств в отношении Т-2 токсина, афлатоксина В₁ и зеараленона в опытах *invivo*. Актуальность данной работы продиктована необходимостью поиска и разработки комплексных средств в условиях сочетанных микотоксикозов.

Изложенные в статье результаты подтвердили опасность сочетанного воздействия микотоксинов на организм цыплят-бройлеров. Присутствие микотоксинов в корме привело к снижению концентрации общего белка, альбуминов, глюкозы, фосфолипидов, липопротеинов высокой плотности, альбумин-глобулинового коэффициента. При микотоксикозе отмечалось повышение содержания мочевой кислоты, креатинина, общего билирубина, холестерина, триглицеридов, активности липазы и индекса атерогенности. Нормализующее влияние на исследуемые биохимические показатели отмечено при использовании многокомпонентного средства (МС), в состав которого входит неорганический (природный минерал галлуазит) и органический сорбенты (β-глюканы растительного происхождения), шрот расторопши и метионин.

Ключевые слова: микотоксины, микотоксикоз, цыплята-бройлеры, биохимические показатели крови, детоксикация, кормовая добавка

Загрязнение микотоксинами является глобальной проблемой для сельскохозяйственной продукции и кормов [1]. Среди основных микотоксинов, связанных с сельским хозяйством, наиболее распространенными являются афлатоксин В₁, зеараленон, дезоксиниваленон, фумонизины, Т-2 токсин и охратоксин. Несмотря на то, что производители кормов следуют строгим руководящим принципам, чтобы поддерживать уровни токсинов ниже максимально допустимых пределов, воздействие на продуктивность животных из-за взаимодействия между различными токсинами возможно при гораздо более низких концентрациях. Большинство изолятов микроскопических грибов продуцируют в ка-

честве вторичных метаболитов один или несколько токсинов, в связи с этим, в центре внимания находятся их комбинированные эффекты. В целом, признаки микотоксикозов включают в себя снижение продуктивности, живой массы, конверсии и потребления корма, диарею, нарушение репродуктивной функции, морфологические, биохимические изменения крови, гистопатологические изменения внутренних органов, иммуносупрессию, падеж.

Исследования по удалению микотоксинов из зараженных кормов в последнее время были сосредоточены на деградации, инактивации или удалении микотоксинов с помощью физических, химических и биологических методов [2].

© Матросова Л. Е., Балакирев Н. А., Тарасова Е. Ю., Ерохондина М. А., Канин М. И., 2023

Наиболее эффективным методом минимизации вреда от микотоксинов в животноводстве является использование особых материалов, которые адсорбируют микотоксины, тем самым ограничивая их биодоступность в организме. Список этих веществ, включает неорганические (бентониты, цеолиты, шунгит и др.) и органические адсорбенты (например, растительные или дрожжевые β -глюканы) [3—6]. Поскольку единый метод детоксикации всегда имеет свои плюсы и минусы, интерес представляют препараты комплексного действия, особенно в случае совместного загрязнения [7]. Признание токсикологических взаимодействий микотоксинов, а также оценка опасности, связанная с одновременным присутствием микотоксинов, загрязняющих корма, создали новую серьезную проблему, которую необходимо изучить и разработать новые средства снижения ущерба, причиняемого микотоксинами с учетом их комбинированного действия.

Цель исследований — оценка потенциальной возможности применения многокомпонентных средств в условиях комбинированного воздействия микотоксинов (Т-2 токсина, афлатоксина В₁, зеараленона) на организм цыплят-бройлеров с учетом изменений биохимических показателей их крови.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыты проведены на 80 цыплятах-бройлерах кросса КОББ 500 (20—21 суточного возраста, живой массой от 0,8 до 0,9 кг), разделенных по принципу аналогов на 8 групп. Цыплята-бройлеры первой группы (биологический контроль) получали только основной рацион. Вторая группа служила токсическим контролем (корм контаминировали смесью микотоксинов). Третья группа птиц получала основной рацион, контаминированный смесью микотоксинов с добавлением многокомпонентного средства № 1 (МС1) на основе β -глюканов, шрота расторопши, витамина Е, аскорбиновой кислоты и левамизола. Четвертая группа — основной рацион, контаминированный смесью микотоксинов с добавлением многокомпонентного средства № 2 (МС2) на основе бентонита, янтарной кислоты, метилурацила, витамина А и пробиотического препарата «Флорин». Пятая группа — основной рацион, контаминированный смесью микотоксинов с добавлением многокомпонентного средства № 3 (МС3) на основе галлуазита, метионина, β -глюканов и шрота расторопши. Шестая, седьмая и восьмая группа служили для оценки безвредности кормовых добавок: ежедневно дополнительно к основному рациону вводили многокомпо-

нентные средства (шестая группа — МС1, седьмая группа — МС2, восьмая группа — МС3) из расчета 0,25 % от рациона.

Микотоксины задавали с кормом (Т-2 токсин — 2,5 мг/кг, афлатоксин В₁—3,3 мг/кг, зеараленон — 1,7 мг/кг) путем тщательного перемешивания. Доступ птиц к корму и воде был свободным.

Экспериментальный период длился на протяжении трех недель. Цыплят акклиматизировали к лабораторным условиям в течение двух недель до начала эксперимента.

Кровь у цыплят-бройлеров брали из вены с внутренней стороны крыла над локтевым сочленением путем прокола. Убой птиц производили на 21-е сутки с соблюдением санитарно-гигиенических норм.

В качестве биохимических показателей токсического действия микотоксинов оценивали содержание в сыворотке крови общего белка, альбуминов, глобулинов, мочевой кислоты, креатинина, общего билирубина, глюкозы, триглицеридов (ТГ), липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), общего количества холестерина (ХС), фосфолипидов, липазы на анализаторе АРД 200. Содержание глобулинов высчитывали по разнице между содержанием общего белка и количества альбуминов; альбумин-глобулиновый коэффициент (АГК), как отношение количества альбуминов к количеству глобулинов. Количество липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) определяли по формуле: $ХС\ ЛПНП = \text{общий } ХС - (ХС\ ЛПВП - ТГ/2,2)$. Расчет индекса атерогенности (ИА) выполняли по формуле: $(ОХС-ЛПВП)/ЛПВП$.

Статистическая обработка данных проводилась в программном продукте Statistica 6.0 с использованием методов описательной и сравнительной статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Биохимические показатели крови занимают особое место и очень важны как для оценки физиологического статуса организма птиц, так и для своевременной диагностики патологических состояний. Данная диагностика позволяет на биохимическом уровне оценить функциональное состояние организма, работу печени, почек, поджелудочной железы и других органов, а также состояние белкового, углеводного, жирового и минерального обмена веществ.

В таблице 1 представлены биохимические показатели сыворотки крови цыплят-бройлеров при смешанном микотоксикозе на фоне применения многокомпонентных средств.

Таблица 1
Биохимические показатели сыворотки крови цыплят-бройлеров при смешанном микотоксикозе на фоне применения многокомпонентных средств

Показатель	Группа							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Фон								
Общий белок, г/л	33,95 ± 1,54	33,22 ± 1,46	34,0 ± 1,51	33,43 ± 1,33	32,98 ± 1,25	32,26 ± 1,23	32,45 ± 0,71	35,48 ± 0,77
Альбумины, %	19,15 ± 0,09	19,16 ± 0,10	19,09 ± 0,11	19,29 ± 0,13	19,33 ± 0,04	19,30 ± 0,09	19,19 ± 0,15	19,31 ± 0,06
Глобулины, %	16,62 ± 1,16	14,12 ± 1,44	14,13 ± 1,46	14,14 ± 1,35	13,64 ± 1,25	12,95 ± 1,17	13,26 ± 0,72	17,97 ± 0,67
АГК	1,17 ± 0,09	1,42 ± 0,15	1,41 ± 0,15	1,51 ± 0,16	1,47 ± 0,12	1,54 ± 0,13	1,46 ± 0,08	1,08 ± 0,04
Мочевая кислота, мкмоль/л	172,86 ± 2,87	171,18 ± 2,12	171,87 ± 3,27	169,31 ± 2,81	170,63 ± 3,06	171,13 ± 3,09	171,46 ± 4,11	172,55 ± 3,46
Креатинин, мкмоль/л	26,55 ± 0,73	24,47 ± 0,20	24,42 ± 0,68	24,85 ± 0,27	24,73 ± 0,26	26,06 ± 0,09	25,50 ± 0,11	25,35 ± 0,92
Билирубин общий, мкмоль/л	1,74 ± 0,04	1,70 ± 0,03	1,75 ± 0,06	1,73 ± 0,05	1,75 ± 0,04	1,73 ± 0,04	1,75 ± 0,03	1,74 ± 0,04
Глюкоза, ммоль/л	13,48 ± 0,05	13,48 ± 0,04	13,43 ± 0,04	13,45 ± 0,03	13,44 ± 0,05	13,46 ± 0,03	13,49 ± 0,02	13,45 ± 0,05
Триглицериды, ммоль/л	3,07 ± 0,06	3,09 ± 0,05	2,92 ± 0,11	3,03 ± 0,06	3,10 ± 0,06	3,12 ± 0,08	3,04 ± 0,06	3,10 ± 0,05
Холестерин, ммоль/л	2,55 ± 0,13	2,42 ± 0,10	2,56 ± 0,10	2,74 ± 0,10	2,73 ± 0,05	2,53 ± 0,06	2,63 ± 0,12	2,71 ± 0,10
ЛПВП, ммоль/л	1,37 ± 0,02	1,36 ± 0,02	1,35 ± 0,02	1,37 ± 0,01	1,35 ± 0,02	1,38 ± 0,01	1,37 ± 0,02	1,37 ± 0,02
ЛПНП, ммоль/л	1,93 ± 0,04	1,88 ± 0,06	1,87 ± 0,02	2,00 ± 0,05	2,02 ± 0,05	1,94 ± 0,04	1,95 ± 0,04	2,01 ± 0,04
ИА	0,85 ± 0,08	1,01 ± 0,09	0,79 ± 0,05	0,95 ± 0,05	0,87 ± 0,08	0,9 ± 0,07	0,91 ± 0,09	0,98 ± 0,08
Фосфолипиды, ммоль/л	3,11 ± 0,07	3,13 ± 0,08	3,16 ± 0,09	3,14 ± 0,09	3,15 ± 0,09	3,09 ± 0,07	3,13 ± 0,07	3,19 ± 0,07
Липаза, МЕ/л	15,53 ± 0,58	16,23 ± 0,50	16,30 ± 0,52	16,73 ± 0,43	15,81 ± 0,42	16,32 ± 0,30	16,90 ± 0,39	16,98 ± 0,38

Окончание табл. 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9
21 сут.								
Общий белок, г/л	35,64 ± 1,17	24,90 ± 1,35***	27,75 ± 1,51*	27,9 ± 1,49*	31,77 ± 2,23	35,13 ± 1,65	34,91 ± 1,66	37,28 ± 0,64
Альбумины, %	19,29 ± 0,06	11,00 ± 0,10***	14,28 ± 0,09***	15,74 ± 0,14***	17,77 ± 0,32	19,23 ± 0,10	18,97 ± 0,17	19,31 ± 0,06
Глобулины, %	16,23 ± 1,09	13,9 ± 1,36	13,46 ± 1,49	12,16 ± 1,53	14,0 ± 2,24	15,9 ± 1,7	15,94 ± 1,65	17,97 ± 0,62
АГК	1,22 ± 0,09	0,83 ± 0,09**	1,13 ± 0,15	1,39 ± 0,19	1,44 ± 0,28	1,03 ± 0,25*	1,01 ± 0,23*	0,9 ± 0,19
Мочевая кислота, мкмоль/л	171,4 ± 2,06	252,32 ± 7,97***	232,79 ± 13,24**	210,70 ± 13,50*	189,97 ± 11,76	172,78 ± 2,48	171,06 ± 3,90	174,44 ± 3,20
Креатинин, мкмоль/л	25,30 ± 0,67	30,79 ± 1,00***	27,55 ± 0,52***	27,8 ± 0,59**	26,13 ± 0,34	26,51 ± 0,61	26,33 ± 0,53	26,07 ± 0,51
Билирубин общий, мкмоль/л	1,76 ± 0,03	2,24 ± 0,15*	2,11 ± 0,18*	1,98 ± 0,13	1,81 ± 0,06	1,75 ± 0,06	1,78 ± 0,05	1,75 ± 0,03
Глюкоза, ммоль/л	13,47 ± 0,03	11,00 ± 0,20***	11,58 ± 0,31***	12,27 ± 0,25**	13,03 ± 0,13*	13,44 ± 0,04	13,45 ± 0,03	13,37 ± 0,05
Триглицериды, ммоль/л	3,00 ± 0,10	4,20 ± 0,18***	3,72 ± 0,20**	3,31 ± 0,10*	3,17 ± 0,08	3,09 ± 0,03	3,01 ± 0,08	3,14 ± 0,12
Холестерин, ммоль/л	2,54 ± 0,09	3,06 ± 0,12**	3,15 ± 0,09**	2,90 ± 0,09	2,70 ± 0,07	2,66 ± 0,07	2,75 ± 0,09	2,76 ± 0,09
ЛПВП, ммоль/л	1,39 ± 0,02	1,08 ± 0,04***	1,18 ± 0,04**	1,30 ± 0,02**	1,42 ± 0,02	1,45 ± 0,02	1,42 ± 0,03	1,44 ± 0,03
ЛПНП, ммоль/л	1,91 ± 0,09	2,81 ± 0,13***	2,56 ± 0,11***	2,21 ± 0,05*	2,03 ± 0,06	1,95 ± 0,04	1,97 ± 0,04	2,03 ± 0,07
ИА	0,82 ± 0,07	1,95 ± 0,18**	1,48 ± 0,09***	1,22 ± 0,08*	0,9 ± 0,05	0,83 ± 0,07	0,94 ± 0,07	0,98 ± 0,08
Фосфолипиды, ммоль/л	3,16 ± 0,07	2,28 ± 0,05***	2,53 ± 0,06***	2,60 ± 0,06***	2,97 ± 0,07	3,15 ± 0,07	3,11 ± 0,05	3,16 ± 0,07
Липаза, МЕ/л	15,48 ± 0,59	18,58 ± 0,42**	17,42 ± 0,58	18,57 ± 0,42	15,86 ± 0,43	16,28 ± 0,28	16,83 ± 0,4	16,85 ± 0,7

* $p < 0,05$ — относительно фоновых показателей** $p < 0,01$ — относительно фоновых показателей*** $p < 0,001$ — относительно фоновых показателей

Присутствие микотоксинов в корме привело к снижению концентрации общего белка и альбуминов в крови. В группе токсического контроля содержание белка снижалось на 25,0 % ($p < 0,01$) и 42,6 % ($p < 0,001$) в сравнении с фоновыми значениями. Микотоксины нарушают синтез белка в печени, кроме того снижение уровня белков в крови может быть обусловлено дегенерацией эндоплазматического ретикулума и ингибированием синтеза белка в гепатоцитах [8]. Снижение концентрации белка и альбуминов при микотоксикозе птиц описано в ряде работ [9—11].

При микотоксикозе концентрации общего белка и альбумина в сыворотке могут быть снижены из-за ингибирования транспорта аминокислот и транскрипции мРНК, а также потенциального прямого взаимодействия микотоксинов с рибосомными единицами, что приводит к ингибированию синтеза белка [12].

Добавление в токсичный корм многокомпонентных средств привело к росту уровня белка в сыворотке по сравнению с группой, получавшей только токсины.

Содержание белка и альбуминов у птиц 3, 4 и 5 групп было снижено на 18,3 % ($p < 0,05$); 16,5 % ($p < 0,05$); 3,7 % и 25,2 % ($p < 0,001$); 18,4 % ($p < 0,001$) и 8,1 % относительно фоновых значений.

Расчетный показатель белкового обмена — альбумин-глобулиновое соотношение у птиц группы токсического контроля снижался на 41,5 % ($p < 0,01$); при использовании МС1 на 19,8 %. При применении МС2 и МС3 снижение данного показателя было менее выражено.

Мочевая кислота является основным конечным продуктом белкового обмена у птицы. Ее показатели имеют значительные колебания, связанные с питанием и физиологическими особенностями кроссов. Патология обмена мочевой кислоты возникает при поражении почек, так как доказано, что у здоровой птицы они легко выводят из организма избыточное количество этого продукта. Микотоксикоз характеризовался повышением содержания мочевой кислоты, статистически достоверные изменения были отмечены у птиц второй (на 47,4 %; $p < 0,001$), третьей (на 35,4 %; $p < 0,01$) и четвертой (на 24,4 %; $p < 0,05$) групп. При использовании МС3 концентрация мочевой кислоты увеличилась на 11,3 % по сравнению с фоновым показателем.

В сыворотке крови сельскохозяйственной птицы вместе с мочевой кислотой определяют уровень креатинина, играющего важную роль в энергетическом обмене мышечной ткани организма.

Воздействие микотоксинов повышало концентрацию креатинина на 25,8 % ($p < 0,001$). Достоверное повышение было отмечено также при использовании МС1 и МС2 на 12,8 % ($p < 0,001$) в третьей, и на 11,8 % ($p < 0,01$) в четвертой группах. В пятой группе концентрация креатинина была выше фоновых значений на 5,7 %.

Уровень углеводного обмена определяли по содержанию глюкозы в сыворотке крови. Это самый распространенный углевод в животном организме. Играет роль связующего звена между энергетической и пластической функциями организма. На 21 сутки уровень глюкозы у цыплят-бройлеров второй, третьей, четвертой группы был достоверно снижен на 18,4 % ($p < 0,001$), 13,7 % ($p < 0,001$), 8,8 % ($p < 0,01$), тогда как в пятой группе снижение было менее выраженным и составило 3,1 % относительно фоновых значений. Таким образом, добавление МС3 стабилизировало уровень глюкозы.

Вопросы обмена липидов в организме птицы имеют важное значение, поскольку липиды являются энергоемким субстратом — при окислении 1,0 г жира образуется 9,3 ккал энергии, что в 2,2 раза больше, чем при окислении белков и углеводов. Жиры мобилизуют кальций из внутриклеточного депо, регулируют многие биологические процессы в крови, являются стимуляторами пищеварительной функции поджелудочной железы и повышают уровень липазы в панкреатическом соке. В организме нейтральные жиры находятся в форме запасного и протоплазматического жира, в состав которого входят фосфолипиды и липопротеины.

При микотоксикозе отмечалось повышение уровня холестерина и триглицеридов. У птиц 3 группы к концу эксперимента содержание холестерина и триглицеридов превышало фоновые показатели на 26,4 % ($p < 0,01$) и 35,9 % ($p < 0,001$), 4 группы — на 23,0 % ($p < 0,01$) и 27,4 % ($p < 0,01$). Колебания этих показателей у птиц при использовании второй и третьей рецептуры были незначительные. Содержание холестерина у птиц 4 и 5 групп было ниже на 8,0 % и 2,0 %; триглицеридов на 9,2 % ($p < 0,05$) и 2,3 %, что отражает возможные гепатозащитные свойства исследуемых многокомпонентных средств. Зафиксировано повышение активности липазы при Т-2, афла- и зеараленотоксикозе птиц. Активность фермента в группе токсического контроля увеличилась на 14,5 % ($p < 0,001$). Статистически достоверных изменений в активности липазы в сыворотке крови при введении в токсичный корм профилактических комплексов не обнаружено.

У птиц, получавших только загрязненный рацион, отмечалось снижение количества фосфолипидов на 27,2 % ($p < 0,001$). Достоверное изменение ($p < 0,001$) исследуемого показателя зафиксировано при введении в токсичный корм МС1 и МС2 (19,9 % и 17,2 %). При использовании МС3 количество фосфолипидов было снижено на 5,7 %.

Цыплята-бройлеры, которым задавали корм загрязненный микотоксинами, показали более низкую концентрацию липопротеинов высокой плотности. У птиц второй, третьей и четвертой групп концентрация ЛПВП была ниже фоновых значений на 20,6 % ($p < 0,001$); 12,6 ($p < 0,01$) и 5,1 %. Концентрация ЛПНП на 21 сутки эксперимента у птиц второй, третьей и четвертой групп повышалась на 49,5 % ($p < 0,001$); 36,9 % ($p < 0,001$) и 10,5 % ($p < 0,05$). При использовании МС3 достоверных изменений исследуемых классов липопротеинов крови не обнаружено.

Повышение холестерина и снижение ЛПВП повлияло на изменение расчетного показателя, отражающего нарушение холестеринового обмена, а именно, индекса атерогенности. Достоверный рост ИА в 1,9 раза ($p < 0,001$) наблюдали у птиц второй и третьей групп. У цыплят четвертой группы показатель был повышен на 28,4 % ($p < 0,05$). Изменений у птиц, получавших МС3, не зафиксировано.

Длительное поступление микотоксинов способствовало повышению концентрации билирубина в сыворотке крови. Относительно фоновых значений содержание общего билирубина возросло на 31,8 % ($p < 0,05$); 20,6 % ($p < 0,05$); 14,5 % и 3,4 %, соответственно во второй, третьей, четвертой и пятой группах.

Статистически достоверных изменений биохимических параметров крови цыплят-бройлеров, получавших дополнительно с основным рационом многокомпонентные средства, не обнаружено. Отмеченные возрастные изменения не выходили за пределы физиологических норм.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одновременное присутствие афлатоксина В₁, Т-2 токсина и зеараленона в корме при потреблении его птицей оказывает неблагоприятное влияние на биохимические показатели сыворотки крови. Добавление в корм многокомпонентных средств для детоксикации микотоксинов снижает неблагоприятное воздействие Т-2 токсина, афлатоксина В₁ и зеараленона. Однако наиболее эффективным оказалось многокомпонентное средство, в состав которого входят нанотрубки галлуазита, обладающие

высокой адсорбционной способностью [13, 14], β-глюканы, способные связывать широкий спектр микотоксинов, шрот расторопши богатый витаминами, минералами и антиоксидантными соединениями, стабилизирующими клеточные и субклеточные мембраны, а также метионин, участвующий в детоксикации микотоксинов в печени за счет повышения активности метильных групп.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Штыров И. Н. 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.
2. Colovi'c, R. Decontamination of Mycotoxin — contaminated feedstuffs and compound feed / R. Colovi'c, N. Puva'ca, F. Cheli [et al.] // Toxins. — 2019. — № 11. — P. 617.
3. Matrosova L. Zeolite, Hepatoprotector and probiotic for aflatoxicosis in pigs international / L. Matrosova, S. Tanaseva, E. Tarasova [et al.] // International Journal of Mechanical and Production Engineering Research and Development. — 2020. — Vol. 10. — P. 7053—7060.
4. Канарская З. А. Адсорбция микотоксинов техническими лигнинами / З. А. Канарская, А. В. Канарский, Ю. Г. Хабаров [и др.] // Химия растительного сырья. — 2011. — № 1. — С. 59—63.
5. Srinual O. Can Red Yeast (*Sporidioboluspararoseus*) Be Used as a Novel Feed Additive for Mycotoxin Binders in Broiler Chickens? / O. Srinual, M. Tossapol, L. Chompunut [et al.] // Toxins. — 2022. — № 14. — P. 678.
6. Yiannikouris A. A novel technique to evaluate interactions between *Saccharomyces cerevisiae* cell wall and mycotoxins: Application to zearalenone / A. Yiannikouris, L. Poughon, X. Cameleyre [et al.] // *Biotechnology Letters*. — 2003. — 25 (10). — P. 783—789.
7. Тарасова Е. Ю. Изучение защитного действия профилактических комплексов на ультраструктуру гепатоцитов кроликов при сочетанном микотоксикозе / Е. Ю. Тарасова, Г. С. Кашеваров, В. Р. Сайтов [и др.] // Ветеринарный врач. — 2023. — № 1. — С. 57—63.
8. Kubena L. Individual and Combined Toxicity of Deoxynivalenol and T-2 Toxin in Broiler / L. Kubena, W. Huff, R. Harvey [et al.] // *Poult. Sci.* — 1989. — № 68. — P. 622—626.
9. Wang G. H. Chen Effects of combinations of ochratoxin A and T-2 toxin on immune function of yellow-feathered broiler chickens / G. H. Wang, C. Y. Xue, F. Chen // *Poult. Sci.* — 2009. — № 88. — P. 504—510.
10. Riahi I. Effect of a Mycotoxin Binder (MMDA) on the Growth Performance, Blood and Carcass Characteristics of Broilers Fed Ochratoxin A and T-2 Mycotoxin Contaminated Diets / I. Riahi, A. J. Ramos, J. Raj [et al.] // *Animals*. — 2021. — v.11. — P. 3205.

11. *Sapcota D. Upadhyaya* Induced aflatoxicosis and its amelioration by dietary Piper nigrum and methomin in broiler chickens: Haemato-biochemical, organ weight and leg/feather score studies / D. Sapcota, R. Islam, T. Upadhyaya // *Ind. J. Anim. Sci.* — 2006. — № 76. — P. 408—412.

12. *Verma J.* Effect of aflatoxin and ochratoxin A on biochemical parameters in broiler chickens / J. Verma, B. Swain, T. Johri // *Ind. J. Anim. Nutr.* — 2012. — № 29. — P. 104—108.

13. *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.

14. *Тарасова Е. Ю.* Нанотрубки галлуазита — новое эффективное средство для борьбы с микотоксикозами / Е. Ю. Тарасова, Э. И. Семенов, Л. Е. Матросова, М. И. Канин // *Научная жизнь.* — 2020. — Т. 15. — № 4(104). — С. 561—571.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Л. Е. Матросова — доктор биологических наук, зав. лабораторией ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»;

Н. А. Балакирев — доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик РАН, зав. кафедрой частной зоотехнии, ФГБОУ ВО МГАВМиБ-МВА имени К. И. Скрябина;

Е. Ю. Тарасова — кандидат биологических наук, зав. лабораторией ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»;

М. А. Ерохондина — младший научный сотрудник ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»;

М. И. Канин — директор ООО «Галлуазит-Урал».

Статья поступила в редакцию 12.07.2023 г.

AGENTES FOR ZOOHYGIENE, DISINFECTION,
DISINSECTIZATION AND DISINFESTATION

Original article
UDC 619:615.9:636.5

EFFICACY EVALUATION OF THE NEW MULTICOMPONENT
AGENTS FOR THE DETOXIFICATION OF T-2
TOXIN, AFLATOXIN B₁ AND ZEARALENONE

Liliya Evgenyevna Matrosova*, Nikolay Aleksandrovich Balakirev**,
Evgeniya Yuryevna Tarasova*✉, Marina Aleksandrovna Erokhondina*, Mikhail Ivanovich Kanin***

*Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety,
Kazan, Republic of Tatarstan, evgenechka1885@gmail.com✉

**Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology —
MBA named after K. I. Scriabin, Moscow, Russia

***Galluzit-Ural, Yuzhnouralsk, Russia

Abstract. This article presents the results of an assessment of the detoxifying ability of three multicomponent agents in relation to T-2 toxin, aflatoxin B₁ and zearalenone in in vivo experiments.

The relevance of this work is dictated by the need to search for and design complex agents in cases of mixed mycotoxicoses.

The results presented in the article confirmed the danger of the combined effect of mycotoxins on the body of broiler chickens. The presence of mycotoxins in the feed led to a decrease in the concentration of total protein, albumin, glucose, phospholipids, high density lipoproteins, albumin-globulin ratio. In case of mycotoxicosis, there was an increase in the content of uric acid, creatinine, total bilirubin, cholesterol, triglycerides, lipase activity and atherogenic index. A normalizing effect on the studied biochemical indicators was noted when using a multicomponent agent (MA), which includes inorganic (natural mineral halloysite) and organic sorbents (β -glucans of plant origin), milk thistle meal and methionine.

Keywords: mycotoxins, mycotoxicosis, broiler chickens, blood biochemical indicators, detoxification, feed additive

Mycotoxin contamination is a global problem for agricultural products and feed [1]. Among the major mycotoxins associated with agriculture, the most common are aflatoxin B₁, zearalenone, deoxynivalenol, fumonisins, T-2 toxin and ochratoxin. Although feed manufacturers follow strict guidelines to keep toxin levels below maximum acceptable limits, effects on animal performance due to interactions between different toxins are possible at much lower concentrations. Most isolates of microscopic fungi produce one or more toxins as secondary metabolites, so their combined effects are in focus. In general, signs of mycotoxicoses include a decrease in productivity, body weight, feed conversion and consumption, diarrhea, impaired reproductive function, blood morphological and biochemical changes, histopathological changes in internal organs, immunosuppression, mortality. Research on the removal of mycotoxins from contaminated feed

has recently focused on the degradation, inactivation or removal of mycotoxins using physical, chemical and biological methods [2].

The most effective method of minimizing the harm from mycotoxins in livestock production is the use of special material that adsorb mycotoxins, thereby limiting their bioavailability in the body. The list of these substances includes inorganic (bentonites, zeolites, shungite, etc.) and organic adsorbents (for example, vegetable or yeast β -glucans) [3—6].

Since a single method of detoxification always has its pros and cons, drugs of complex action are of interest, especially in the case of joint pollution [7].

The admission of toxicological interactions of mycotoxins, as well as the assessment of the hazard associated with the simultaneous presence of mycotoxins contaminating feed, has created a new serious problem that needs to be studied, and new means of reducing

the damage caused by mycotoxins, taking into account their combined effects, should be designed.

The objective of the research is to assess the potential use of multicomponent agents under conditions of combined exposure to mycotoxins (T-2 toxin, aflatoxin B₁, zearalenone) on the body of broiler chickens, taking into account changes in the blood biochemical indicators.

MATERIAL AND METHODS

The experiments were carried out on 80 broiler chickens of COBB500 cross (20—21 days old, live weight from 0.8 to 0.9 kg), divided into 8 groups according to the principle of analogues. Broiler chickens of the first group (biological control) received only the basic diet. The second group served as a toxic control (the food was contaminated with a mixture of mycotoxins). The third group of poultry received a basic diet contaminated with a mixture of mycotoxins with the addition of a multicomponent agent No. 1 (MC1) based on β -glucans, milk thistle meal, vitamin E, ascorbic acid and levamisole. The fourth group is the main diet contaminated with a mixture of mycotoxins with the addition of a multicomponent agent No. 2 (MC2) based on bentonite, succinic acid, methyluracil, vitamin A and the probiotic drug "Florin". The fifth group is the main diet contaminated with a mixture of mycotoxins with the addition of a multicomponent agent No. 3 (MC3) based on halloysite, methionine, β -glucans and milk thistle meal. The sixth, seventh and eighth groups were used to assess the safety of feed additives: daily, in addition to the main diet, multicomponent agents were introduced (sixth group — MC1, seventh group — MC2, eighth group — MC3) at the rate of 0.25 % of the diet.

Mycotoxins were given with feed (T-2 toxin — 2.5 mg/kg, aflatoxin B₁—3.3 mg/kg, zearalenone — 1.7 mg/kg) by thorough mixing. The poultry had free access to food and water.

The experimental period lasted for three weeks. The chickens were acclimatized to laboratory conditions for two weeks prior to the experiment onset.

Blood from broiler chickens was taken by puncture from a vein on the inside of the wing above the elbow joint.

The poultry were slaughtered on day 21 in compliance with sanitary and hygienic standards.

As biochemical indicators of the toxic effect of mycotoxins, the content of total protein, albumins, globulins, uric acid, creatinine, total bilirubin, glucose, triglycerides (TG), high-density lipoproteins (HDL), total cholesterol (CH), phospholipids, lipases on an

ARD200 analyzer. The content of globulins was calculated from the difference between the content of total protein and the amount of albumin; albumin-globulin ratio (AGR), as the ratio of the amount of albumin to the amount of globulins.

The amount of low density lipoproteins (LDL) was determined by the formula: LDL CH = total CH — (HDL cholesterol — TG / 2.2). The calculation of the atherogenic index (AI) was performed according to the formula: (TCH-HDL)/HDL.

Statistical data processing was carried out in the Statistica 6.0 software product using descriptive and comparative statistics methods.

STUDY RESULTS

Blood biochemical indicators occupy a special place and are very important both for assessing the physiological status of the poultry organism and for the timely diagnosis of pathological states. This diagnostic allows assessing the functional state of the body, the functioning of the liver, kidneys, pancreas and other organs, as well as the state of protein, carbohydrate, fat and mineral metabolism at the biochemical level.

Table 1 presents the blood serum biochemical indicators of the of broiler chickens with mixed mycotoxicosis against the background of the use of multicomponent agents.

The presence of mycotoxins in the feed led to a decrease in the concentration of total protein and albumin in the blood. In the toxic control group, the protein content decreased by 25.0 % ($p < 0.01$) and 42.6 % ($p < 0.001$), compared to baseline values. Mycotoxins impair protein synthesis in the liver; in addition, a decrease in the blood level of proteins may be due to degeneration of the endoplasmic reticulum and inhibition of protein synthesis in hepatocytes [8].

A decrease in the concentration of protein and albumin in case of avian mycotoxicosis has been described in a number of works [9—11].

In case of mycotoxicosis, serum total protein and albumin concentrations may be reduced due to inhibition of amino acid transport and mRNA transcription, as well as the potential direct interaction of mycotoxins with ribosomal units, leading to inhibition of protein synthesis [12].

The addition of multi-ingredient products to the toxic feed resulted in an increase in serum protein levels, compared to the toxin-only group.

The content of protein and albumin in poultry of groups 3, 4 and 5 was reduced by 18.3 % ($p < 0.05$), 16.5 % ($p < 0.05$), 3.7 % and 25.2 % ($p < 0.001$), 18.4 % ($p < 0.001$) and 8.1 % relative to baseline values.

Table 1
Blood serum biochemical indicators of broiler chickens with mixed mycotoxicosis against the background of the use of multicomponent agents

Indicators	Group							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Baseline								
Total protein, g/L	33.95 ± 1.54	33.22 ± 1.46	34.0 ± 1.51	33.43 ± 1.33	32.98 ± 1.25	32.26 ± 1.23	32.45 ± 0.71	35.48 ± 0.77
Albumins, %	19.15 ± 0.09	19.16 ± 0.10	19.09 ± 0.11	19.29 ± 0.13	19.33 ± 0.04	19.30 ± 0.09	19.19 ± 0.15	19.31 ± 0.06
Globulins, %	16.62 ± 1.16	14.12 ± 1.44	14.13 ± 1.46	14.14 ± 1.35	13.64 ± 1.25	12.95 ± 1.17	13.26 ± 0.72	17.97 ± 0.67
AGC	1.17 ± 0.09	1.42 ± 0.15	1.41 ± 0.15	1.51 ± 0.16	1.47 ± 0.12	1.54 ± 0.13	1.46 ± 0.08	1.08 ± 0.04
Uric acid, µmol/L	172.86 ± 2.87	171.18 ± 2.12	171.87 ± 3.27	169.31 ± 2.81	170.63 ± 3.06	171.13 ± 3.09	171.46 ± 4.11	172.55 ± 3.46
Creatinine, µmol/L	26.55 ± 0.73	24.47 ± 0.20	24.42 ± 0.68	24.85 ± 0.27	24.73 ± 0.26	26.06 ± 0.09	25.50 ± 0.11	25.35 ± 0.92
Bilirubin total, µmol/L	1.74 ± 0.04	1.70 ± 0.03	1.75 ± 0.06	1.73 ± 0.05	1.75 ± 0.04	1.73 ± 0.04	1.75 ± 0.03	1.74 ± 0.04
Glucose, mmol/L	13.48 ± 0.05	13.48 ± 0.04	13.43 ± 0.04	13.45 ± 0.03	13.44 ± 0.05	13.46 ± 0.03	13.49 ± 0.02	13.45 ± 0.05
Triglycerides, mmol/L	3.07 ± 0.06	3.09 ± 0.05	2.92 ± 0.11	3.03 ± 0.06	3.10 ± 0.06	3.12 ± 0.08	3.04 ± 0.06	3.10 ± 0.05
Cholesterol, mmol/L	2.55 ± 0.13	2.42 ± 0.10	2.56 ± 0.10	2.74 ± 0.10	2.73 ± 0.05	2.53 ± 0.06	2.63 ± 0.12	2.71 ± 0.10
HDL, mmol/L	1.37 ± 0.02	1.36 ± 0.02	1.35 ± 0.02	1.37 ± 0.01	1.35 ± 0.02	1.38 ± 0.01	1.37 ± 0.02	1.37 ± 0.02
LDL, mmol/L	1.93 ± 0.04	1.88 ± 0.06	1.87 ± 0.02	2.00 ± 0.05	2.02 ± 0.05	1.94 ± 0.04	1.95 ± 0.04	2.01 ± 0.04
AI	0.85 ± 0.08	1.01 ± 0.09	0.79 ± 0.05	0.95 ± 0.05	0.87 ± 0.08	0.9 ± 0.07	0.91 ± 0.09	0.98 ± 0.08
Phospholipids, mmol/L	3.11 ± 0.07	3.13 ± 0.08	3.16 ± 0.09	3.14 ± 0.09	3.15 ± 0.09	3.09 ± 0.07	3.13 ± 0.07	3.19 ± 0.07
Lipase, IU/L	15.53 ± 0.58	16.23 ± 0.50	16.30 ± 0.52	16.73 ± 0.43	15.81 ± 0.42	16.32 ± 0.30	16.90 ± 0.39	16.98 ± 0.38

Table 1 (the end)

1	Day 21								
	2	3	4	5	6	7	8	9	
Total protein, g/L	35.64 ± 1.17	24.90 ± 1.35**	27.75 ± 1.51*	27.9 ± 1.49*	31.77 ± 2.23	35.13 ± 1.65	34.91 ± 1.66	37.28 ± 0.64	
Albumins, %	19.29 ± 0.06	11.00 ± 0.10***	14.28 ± 0.09***	15.74 ± 0.14***	17.77 ± 0.32	19.23 ± 0.10	18.97 ± 0.17	19.31 ± 0.06	
Globulins, %	16.23 ± 1.09	13.9 ± 1.36	13.46 ± 1.49	12.16 ± 1.53	14.0 ± 2.24	15.9 ± 1.7	15.94 ± 1.65	17.97 ± 0.62	
AGC	1.22 ± 0.09	0.83 ± 0.09**	1.13 ± 0.15	1.39 ± 0.19	1.44 ± 0.28	1.03 ± 0.25*	1.01 ± 0.23*	0.9 ± 0.19	
Uric acid, µmol/L	171.4 ± 2.06	252.32 ± 7.97***	232.79 ± 13.24**	210.70 ± 13.50*	189.97 ± 11.76	172.78 ± 2.48	171.06 ± 3.90	174.44 ± 3.20	
Creatinine, µmol/L	25.30 ± 0.67	30.79 ± 1.00***	27.55 ± 0.52***	27.8 ± 0.59**	26.13 ± 0.34	26.51 ± 0.61	26.33 ± 0.53	26.07 ± 0.51	
Bilirubin total, µmol/L	1.76 ± 0.03	2.24 ± 0.15*	2.11 ± 0.18*	1.98 ± 0.13	1.81 ± 0.06	1.75 ± 0.06	1.78 ± 0.05	1.75 ± 0.03	
Glucose, mmol/L	13.47 ± 0.03	11.00 ± 0.20***	11.58 ± 0.31***	12.27 ± 0.25**	13.03 ± 0.13*	13.44 ± 0.04	13.45 ± 0.03	13.37 ± 0.05	
Triglycerides, mmol/L	3.00 ± 0.10	4.20 ± 0.18***	3.72 ± 0.20**	3.31 ± 0.10*	3.17 ± 0.08	3.09 ± 0.03	3.01 ± 0.08	3.14 ± 0.12	
Cholesterol, mmol/L	2.54 ± 0.09	3.06 ± 0.12**	3.15 ± 0.09**	2.90 ± 0.09	2.70 ± 0.07	2.66 ± 0.07	2.75 ± 0.09	2.76 ± 0.09	
HDL, mmol/L	1.39 ± 0.02	1.08 ± 0.04***	1.18 ± 0.04**	1.30 ± 0.02**	1.42 ± 0.02	1.45 ± 0.02	1.42 ± 0.03	1.44 ± 0.03	
LDL, mmol/L	1.91 ± 0.09	2.81 ± 0.13***	2.56 ± 0.11***	2.21 ± 0.05*	2.03 ± 0.06	1.95 ± 0.04	1.97 ± 0.04	2.03 ± 0.07	
AI	0.82 ± 0.07	1.95 ± 0.18**	1.48 ± 0.09***	1.22 ± 0.08*	0.9 ± 0.05	0.83 ± 0.07	0.94 ± 0.07	0.98 ± 0.08	
Phospholipids, mmol/L	3.16 ± 0.07	2.28 ± 0.05***	2.53 ± 0.06***	2.60 ± 0.06***	2.97 ± 0.07	3.15 ± 0.07	3.11 ± 0.05	3.16 ± 0.07	
Lipase, IU/L	15.48 ± 0.59	18.58 ± 0.42**	17.42 ± 0.58	18.57 ± 0.42	15.86 ± 0.43	16.28 ± 0.28	16.83 ± 0.4	16.85 ± 0.7	

* $p < 0.05$ — relative to the baseline indicators
 ** $p < 0.01$ — relative to the baseline indicators
 *** $p < 0.001$ — relative to the baseline indicators

The calculated indicator of protein metabolism — albumin-globulin ratio in the poultry of the toxic control group decreased by 41.5 % ($p < 0.01$); when using MC1 — by 19.8 %. With the use of MC2 and MC3, the decrease in this indicator was less pronounced.

Uric acid is the main end product of protein metabolism in poultry. Its indicators have significant fluctuations associated with nutrition and physiological characteristics of crosses.

The pathology of uric acid metabolism occurs when the kidneys are damaged, since it has been proven that in a healthy poultry they easily remove an excess amount of this product from the body. Mycotoxicosis was characterized by an increase in the content of uric acid, statistically significant changes were noted in the poultry of the second (by 47.4 %, $p < 0.001$), third (by 35.4 %, $p < 0.01$) and fourth (by 24.4 %, $p < 0.05$) groups. When using MC3, the concentration of uric acid increased by 11.3 %, compared to the baseline indicator.

In the blood serum of poultry, together with uric acid, the level of creatinine, which plays an important role in the energy metabolism of the body's muscle tissue, is determined. Exposure to mycotoxins increased creatinine concentration by 25.8 % ($p < 0.001$). A significant increase by 12.8 % ($p < 0.001$) in the third group and by 11.8 % ($p < 0.01$) in the fourth group was also noted when using MC1 and MC2. In the fifth group, the creatinine concentration was higher by 5.7 % than the baseline values.

The level of carbohydrate metabolism was determined by the content of glucose in blood serum. It is the most abundant carbohydrate in the animal body. It plays the role of a link between the energy and plastic functions of the body. On day 21, the glucose level in broiler chickens of the second, third, fourth groups was significantly reduced by 18.4 % ($p < 0.001$), 13.7 % ($p < 0.001$), 8.8 % ($p < 0.01$), while in the fifth group the decrease was less pronounced and amounted to 3.1 % relative to the baseline values. Thus, the addition of MC3 stabilized the glucose level.

The issues of lipid metabolism in the body of a poultry are important, since lipids are an energy-intensive substrate — when 1.0 g of fat is oxidized, 9.3 kcal of energy is generated, which is by 2.2 times more than when proteins and carbohydrates are oxidized. Fats mobilize calcium from the intracellular depot, regulate many biological processes in the blood, stimulate the digestive function of the pancreas and increase the level of lipase in the pancreatic juice. In the body, neutral fats are in the form of storage and protoplasmic fat, which includes phospholipids and lipoproteins.

In case of mycotoxicosis, an increase in the level of cholesterol and triglycerides was noted. In the poultry of group 3, the content of cholesterol and triglycerides exceeded the baseline values by 26.4 % ($p < 0.01$) and 35.9 % ($p < 0.001$), group 4 — by 23.0 % ($p < 0.01$) and 27.4 % ($p < 0.01$) by the end of the experiment. The fluctuations of these indicators in poultry when using the second and third formulations were insignificant. The content of cholesterol in the poultry of groups 4 and 5 was lower by 8.0 % and 2.0 %, triglycerides — by 9.2 % ($p < 0.05$) and 2.3 %, which reflects the possible hepatoprotective properties of the studied multicomponent agents.

An increase in lipase activity was recorded in T-2, afla- and zearalenontoxicosis in poultry. Enzyme activity in the toxic control group increased by 14.5 % ($p < 0.001$). Statistically significant changes in the activity of lipase in blood serum after the introduction of prophylactic complexes into toxic feed were not found.

In the poultry that received only the contaminated diet, there was a decrease by 27.2 % ($p < 0.001$) in the amount of phospholipids. A significant change ($p < 0.001$) of the studied indicator was recorded when MC1 and MC2 were introduced into the toxic feed (19.9 % and 17.2 %). When using MC3, the amount of phospholipids was reduced by 5.7 %.

Broiler chickens fed a mycotoxin-contaminated diet showed a lower concentration of high density lipoprotein. In the poultry of the second, third and fourth groups, the concentration of HDL was lower than the baseline values by 20.6 % ($p < 0.001$), 12.6 % ($p < 0.01$) and 5.1 %. The concentration of LDL on day 21 of the experiment in the poultry of the second, third and fourth groups increased by 49.5 % ($p < 0.001$), 36.9 % ($p < 0.001$) and 10.5 % ($p < 0.05$). When using MC3, no significant changes in the studied classes of blood lipoproteins were found.

An increase in cholesterol and a decrease in HDL affected the change in the calculated indicator, reflecting a violation of cholesterol metabolism, namely, the atherogenic index. A significant increase in AI by 1.9 times ($p < 0.001$) was observed in the poultry of the second and third groups. In the chickens of the fourth group, the indicator was increased by 28.4 % ($p < 0.05$). The changes in the poultry treated with MC3 were not recorded.

Long-term intake of mycotoxins contributed to an increase in the blood serum concentration of bilirubin. Relative to the baseline values, the content of total bilirubin increased by 31.8 % ($p < 0.05$), 20.6 % ($p < 0.05$), 14.5 % and 3.4 % in the second, third, fourth and fifth groups, respectively.

Statistically significant changes in the blood biochemical indicators of the broiler chickens that received multicomponent agents in addition to the main diet were not found. The noted age-related changes did not go beyond the physiological norms.

CONCLUSION

The simultaneous presence of aflatoxin B₁, T-2 toxin and zearalenone in the feed when consumed by the poultry has an adverse effect on the blood serum biochemical indicators. The addition of multicomponent mycotoxin detoxifiers to the feed reduces the adverse effects of T-2 toxin, aflatoxin B₁ and zearalenone. However, the most effective was a multicomponent agent, which includes halloysite nanotubes with a high adsorption capacity [13, 14], β-glucans capable of binding a wide range of mycotoxins, milk thistle meal rich in vitamins, minerals and antioxidant compounds that stabilize cell and subcellular membranes, as well as methionine, which is involved in the detoxification of mycotoxins in the liver by increasing the activity of methyl groups.

REFERENCES

1. *Shtyrov I. N.* Analysis of the data on the spread of T-2 toxin in the Republic of Tatarstan / I. N. Shtyrov, E. I. Semenov, L. E. Matrosova [et al.] // *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii (International Bulletin of Veterinary Medicine)*. — 2021. — No. 1. — P. 167—172.
2. *Colovi'c, R.* Decontamination of Mycotoxin — contaminated feedstuffs and compound feed / R. Colovi'c, N. Puva'ca, F. Cheli [et al.] // *Toxins*. — 2019. — No. 11. — P. 617.
3. *Matrosova L.* Zeolite, Hepatoprotector and probiotic for aflatoxicosis in pigs international / L. Matrosova, S. Tanaseva, E. Tarasova [et al.] // *International Journal of Mechanical and Production Engineering Research and Development*. — 2020. — Vol. 10. — P. 7053—7060.
4. *Kanarskaya Z. A.* Adsorption of mycotoxins by technical lignins / Z. A. Kanarskaya, A. V. Kanarskiy, Yu. G. Khabarov [et al.] // *Khimiya rastitelnogo syrya (Chemistry of vegetable raw materials)*. — 2011. — No. 1. — P. 59—63.
5. *Srinual O.* Can Red Yeast (*Sporidiobolus parvoseus*) Be Used as a Novel Feed Additive for Mycotoxin Binders in Broiler Chickens? / O. Srinual, M. Tossapol, L. Chompunut [et al.] // *Toxins*. — 2022. — No. 14. — P. 678.
6. *Yiannikouris A.* A novel technique to evaluate interactions between *Saccharomyces cerevisiae* cell wall and mycotoxins: Application to zearalenone / A. Yiannikouris, L. Poughon, X. Cameleyre [et al.] // *Biotechnology Letters*. — 2003. — 25 (10). — P. 783—789.
7. *Tarasova E. Yu.*, Studying the protective effect of prophylactic complexes on the ultrastructure of rabbit hepatocytes in case of mixed mycotoxicosis / E. Yu. Tarasova, G. S. Kashevarov, V. R. Saitov // *Veterinarnyy vrach (Veterinarian)*. — 2023. — No. 1. — P. 57—63.
8. *Kubena L.* Individual and Combined Toxicity of Deoxynivalenol and T-2 Toxin in Broiler / L. Kubena, W. Huff, R. Harvey [et al.] // *Poult. Sci.* — 1989. — No. 68. — P. 622—626.
9. *Wang G. H.* Chen Effects of combinations of ochratoxin A and T-2 toxin on immune function of yellow-feathered broiler chickens / G. H. Wang, C. Y. Xue, F. Chen // *Poult. Sci.* — 2009. — No. 88. — P. 504—510.
10. *Riahi I.* Effect of a Mycotoxin Binder (MMDA) on the Growth Performance, Blood and Carcass Characteristics of Broilers Fed Ochratoxin A and T-2 Mycotoxin Contaminated Diets / I. Riahi, A. J. Ramos, J. Raj [et al.] // *Animals*. — 2021. — v.11. — P. 3205.
11. *Sapkota D.* Upadhyaya Induced aflatoxicosis and its amelioration by dietary Piper nigrum and methomin in broiler chickens: Haemato-biochemical, organ weight and leg/feather score studies / D. Sapkota, R. Islam, T. Upadhyaya // *Ind. J. Anim. Sci.* — 2006. — No. 76. — P. 408—412.
12. *Verma J.* Effect of aflatoxin and ochratoxin A on biochemical parameters in broiler chickens / J. Verma, B. Swain, T. Johri // *Ind. J. Anim. Nutr.* — 2012. — No. 29. — P. 104—108.
13. *Tarasova E. Yu.* Study of the sorption activity of halloysite nanotubes in relation to zearalenone and ochratoxin A / E. Yu. Tarasova // *Vestnik Mariyskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Selskokhozyaystvennyye nauki. Ekonomicheskie nauki (Bulletin of Mari State University. Series: Agricultural sciences. Economic sciences)*. — 2021. — V. 7. — No. 1 (25). — P. 64—70.
14. *Tarasova E. Yu.* Halloysite nanotubes — a new effective tool for combating mycotoxicoses / E. Yu. Tarasova, E. I. Semenov, L. E. Matrosova, M. I. Kanin // *Nauchnaya zhizn (scientific life)*. — 2020. — V. 15. — No. 4 (104). — P. 561—571.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

- L. E. Matrosova** — Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory;
N. A. Balakirev — Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Academician of the RAS, Head of the Department of Special Zootechnics;
E. Yu. Tarasova — Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory;
M. A. Erokhondina — Junior Scientific Associate;
M. I. Kanin — Director of Galluazit-Ural LLC.

The article was submitted 12.07.2023.

Научная статья

УДК 614.9. 614.94—579.2

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2023.3.94

СРАВНЕНИЕ КУЛЬТУРАЛЬНЫХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИДЕНТИФИКАЦИИ САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Ксения Андреевна Калиткина*✉, Виталий Юрьевич Морозов*,
Василий Иванович Дорожкин**, Ирина Павловна Салеева*, Роман Олегович Колесников*,
Алексей Николаевич Черников*, Маргарита Сергеевна Колесникова*,
Хайрулламин Башир*

*Санкт-Петербургский государственный аграрный университет,
Пушкин, Санкт-Петербург, Россия, kalitkina.xeniya@gmail.com✉

**Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии,
гигиены и экологии — филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, Москва, Россия

Аннотация. В статье приведены результаты по сравнению культуральных и молекулярно-генетических методов идентификации микроорганизмов воздушной среды при выращивании бройлеров в 2 помещениях. Выполненными исследованиями установлено, что разница между количеством микроорганизмов, определяемых молекулярно-генетическим способом и культуральными методами составляла на протяжении опыта от 21,0 до 90,3 раза в зависимости от помещения и времени отбора. Таким образом, использование молекулярно-генетических методов дает возможность сократить время анализа проб воздуха, произвести учет некультивируемых форм микроорганизмов, которые невозможно идентифицировать культуральными методами.

Ключевые слова: микроорганизмы, культуральные и молекулярно-генетические методы, бактерии, воздух помещений

Интенсивное ведение птицеводства связано с высокой концентрацией органической пыли в помете, подстилке, а также в воздушной среде. Органическая пыль на птицефабриках представляет собой сложную смесь частиц помета, корма, подстилки, перьев, клещей, бактерий, грибов, грибковых спор и эндотоксинов [1].

Концентрация микроорганизмов может достигать от 10^{14} КОЕ/г [2].

Сообщалось, что в органической пыли обнаружены такие роды плесневых грибов, как *Acremonium*, *Alternaria*, *Aurobasidium*, *Aspergillus*, *Basidiospores*, *Cladosporium*, *Chrysosporium*, *Drechslera*, *Epicoccum*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Geomyces*, *Mucor*, *Penicillium*, *Pithomyces*, *Rhizomucor*, *Scopulariopsis* и *Ulocladium* [3].

Среди бактерий обнаруживали *Bacillus anthracis*, *Chlamydia ornithosis*, *Salmonella cholerae-*

suis var., *Listeria monocytogenes*, *Mycoplasma* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp [4].

Эти микроорганизмы могут быть вредны как для работников птицефабрик, так и для поголовья птиц. В литературе существуют указания на то, что сотрудники птицефабрик подвергаются воздействию более высоких уровней органической пыли по сравнению с сотрудниками молочных ферм и свинокомплексов [5].

Органическую пыль, которая проникает в дыхательную систему человека связывают с возникновением аллергии, рака, фиброза, хронической обструктивной болезни легких, астмы, хронического бронхита, гиперреактивности бронхов, токсического синдрома, раздражения слизистых оболочек конъюнктивы и кожи [6].

Большинство исследований микрофлоры воздуха птичников выполнено с применением класси-

ческих методов микробиологии: методов аэробного и анаэробного культивирования на питательных средах, фенотипической характеристике культивируемых изолятов, а также световой и электронной микроскопии [7]. Тем не менее, микрофлора, в частности, санитарно-значимая, различных сред не может быть точно идентифицирована и изучена этими методами, поскольку только некоторая часть всех микроорганизмов поддается культивированию [8]. Использование молекулярных методов (секвенирования и ПЦР ДНК) улучшило анализ состава микробиоценоза различных сред [9], что привело к улучшению контроля качества санитарных мероприятий. Молекулярные методы все чаще используются для выявления патогенов, которые трудно культивировать или которые до настоящего времени не культивировались.

В настоящее время имеются ограниченные сведения о составе органической пыли, присутствующей в воздухе на птицефабриках нашей страны [10]. Необходимо провести дополнительные исследования микробиоты воздуха, которая может представлять угрозу для здоровья работников и поголовья птиц. Сравнение культуральных и молекулярно-генетических методов идентификации микроорганизмов в области изучения воздушной среды может выявить преимущества или ограничения тех или других и оценить эффективность их применения в научных и прикладных исследованиях в области птицеводства.

Целью исследования была оценка микробиологического загрязнения воздуха при выращивании бройлеров с 1-суточного до 35-суточного возраста с применением культуральных и молекулярно-генетических методов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Научно-хозяйственный эксперимент был проведен в 2022 году в условия учебно-опытного хозяйства ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный аграрный университет. Объектом исследования служил воздух двух помещений (№ 1 и № 2) для содержания бройлеров кросса «Росс-308». Кормление и условия содержания птицы были идентичными с учетом рекомендаций «Aviagen LLC». Кормление птицы осуществлялось вволю гранулированными комбикормами: «Старт» (крупка, 0—14 дней), «Рост» (крупка, 15—28 дней), «Финиш» (гранулы, 29—42 дня). Цыплят-бройлеров выращивали с 1-суточного до 35-суточного возраста, количество голов — 25 в каждом помещении.

Перед посадкой птицы, а также на 1-й, 7-й, 14-й, 21-й, 28-й и 35-й день выращивания бройлеров осуществляли сбор микроорганизмов воздуха опытных боксов посредством использования стандартизированного прибора ПУ-1Б (Россия, ЗАО «Химко»). Принцип работы прибора основан на импакционном осаждении аэрозолей на плотную питательную среду МПА (мясо-пептонный агар) в случае дальнейшего применения культуральных методов и на физраствор в случае использования молекулярных методов анализа.

В воздушной среде помещений определяли общее количество микроорганизмов, содержащихся в 1 м³ воздуха, а также их таксономический состав с применением культуральных методов на базе лаборатории факультета зооинженерии и биотехнологий и молекулярно-генетических методов на базе кафедры на производстве «Биотехнология кормов» ФГБОУ ВО СПбГАУ.

Культуральные исследования проводили в соответствии с методическим пособием и рекомендациями [11, 12]. Чашки Петри со средой МПА, извлеченные из прибора ПУ-1Б с максимально возможным соблюдением условий стерильности, выращивали в термостате при температуре 37 °С в течение 24—48 часов. Учет результатов проводили путем подсчета количества выросших колониеобразующих единиц (КОЕ) проводили в динамике. Дифференциацию видов бактерий проводили на 35-е сутки выращивания птиц по морфологическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим свойствам и с помощью посева на дифференциальные среды. Идентификацию выделенных культур осуществляли на 35-е сутки выращивания птиц в соответствии с требованиями, изложенными в «Кратком определителе бактерий Берджи» (1997).

Молекулярно-генетические исследования проводились в параллель с культуральными. Отбор проб проводили прибором ПУ-1Б, средой для улавливания органической пыли служил стерильный физиологический раствор. Тотальную ДНК из образцов выделяли с помощью набора DNA Purification Kit («Fermentas, Inc.», Литва), следуя рекомендациям производителя. Концентрацию очищенных фрагментов определяли с помощью флуориметра Qubit 2.0 («Invitrogen», Германия) согласно рекомендации изготовителя.

Для изучения общего количества микроорганизмов применяли метод количественной ПЦР. Количественную ПЦР проводили с использованием амплификатора детектирующего ДТ Lite-4 (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) с помощью

«Набора реактивов для проведения ПЦР-РВ в присутствии интеркалирующего красителя EVA Green» (ЗАО «Синтол», Россия) и универсальных праймеров на общее количество бактерий (5'-3') HDA1: АСТ ССТ АСГ GGA GGC АСГ АСГ, HDA2: GTA TТА ССГ ССГ СТГ СТГ GCA. Анализ проводили в динамике на протяжении всего эксперимента. Для анализа содержания микромицета рода *Aspergillus* на 35-е сутки выращивания птиц использовали праймеры Asp1 СGGCCСТТАААТАGСССGGTC, Asp2 АССССССТGAGCCAGTССG. Применяли следующие условия амплификации: 95 °С — 3 мин. (1 цикл), 95 °С — 1 мин., 57,6 °С — 1 мин., 72 °С — 1 мин. (40 циклов), 72 °С — 5 мин (1 цикл).

Для изучения состава микрофлоры на 35-е сутки выращивания птиц был выбран метод T-RFLP (terminal restriction fragment length polymorphism). Для рестрикции (30—50 нг ампликонов) использовали ферменты HaeIII, HhaI и MspI («Fermentas», Литва). Продукты рестрикции секвенировали (SEQ 8000, «Beckman Coulter», США). Для определения филогенетической принадлежности бактерий использовали программу Fragment Sorter и базу данных. Результаты, полученные в относительном количестве (долях микроорганизмов в общем количестве) были пересчитаны в абсолютное количество микроорганизмов с учетом данных общего

содержания бактерий, полученных методом количественной ПЦР по формуле:

$$X = \frac{OC(\text{клеток/г}) \times OK(\%),}{100(\%)}$$

где X — абсолютное количество микроорганизмов (клеток/м³); OC — общее содержание бактерий, методом количественной ПЦР; OK — относительное количество бактерий методом T-RFLP.

Цифровые данные были подвергнуты статистической обработке с применением однофакторного дисперсионного анализа и критерия множественных сравнений Ньюмена — Кейсла в программе «Primer of Biostatistics 4.03» для Windows XP. Результаты представлены как средние (M) и стандартные ошибки средних ($\pm SEM$). Достоверность различий устанавливали по t -критерию Стьюдента, различия считали статистически значимыми при $P \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты сравнительных исследований общего количества бактерий воздуха помещений для выращивания птиц в динамике с применением культуральных методов и молекулярно-генетических метода количественной ПЦР представлены на рисунке 1.

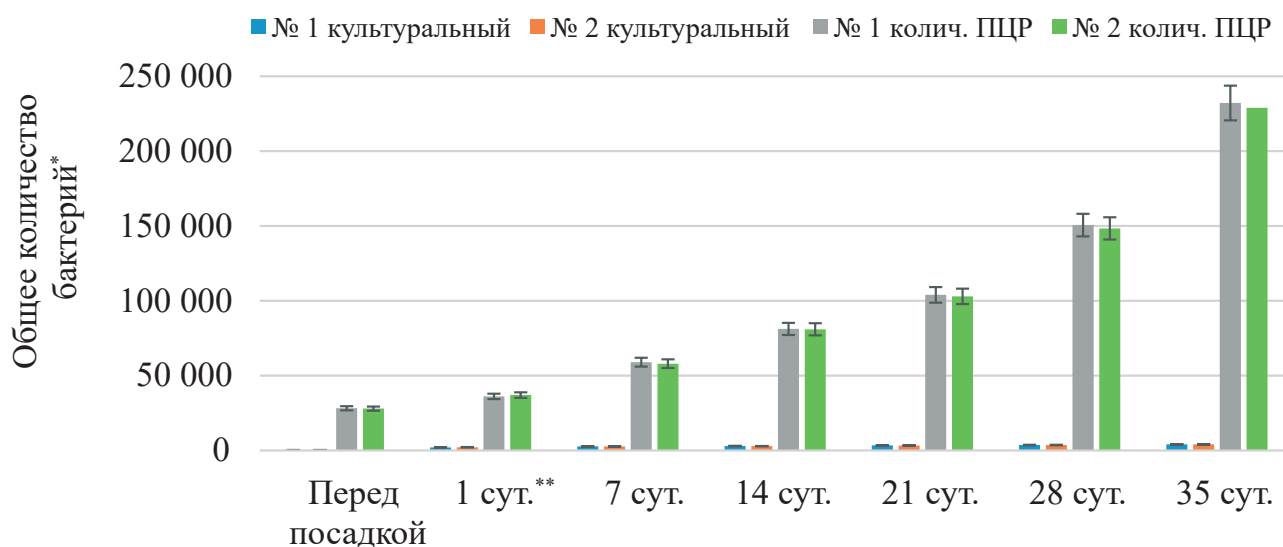


Рис. 1. Результаты исследований общего количества бактерий в пробах воздуха культуральным методом и с помощью количественной ПЦР, № 1, 2 — номера помещений:

*КОЕ/ м³ при использовании культуральных методов, клеток/м³ при использовании метода количественной ПЦР;
**возраст птиц на момент исследования

Из рисунка 1 видно, что уже в первые сутки после посадки цыплят количество микроорганизмов в 1 м³ воздуха в помещениях № 1 и № 2 уве-

личилось по сравнению с моментом до посадки, что было показано как с применением культуральных методов (в 5,2 и 7,1 раза в зависимости

от помещения) ($P \leq 0,05$), так и с помощью количественной ПЦР (в 1,3 раза в обоих помещениях) ($P \leq 0,05$). На протяжении всего периода опыта с увеличением возраста птицы микробная обсеменность увеличивалась ($P \leq 0,05$) в обоих помещениях. Достоверной разницы по количеству микроорганизмов в воздухе при сравнении помещения № 1 и помещения № 2 на всех этапах отбора проб обнаружено не было ($P > 0,05$). С применением культуральных методов показано, что микробное давление увеличивалось естественным образом от уровня от посадки до 35 суток в 2,0 и 1,9 раза ($P \leq 0,05$) в помещениях 1 и 2 соответственно, с применением количественной ПЦР — в 6,4 и 6,2 раза ($P \leq 0,05$). То есть, уровень контаминации воздуха, вероятно, имеет связь с жизнедеятельностью птиц, присутствием подстилочного материала, комбикорма, воды.

В количественном выражении максимальное содержание бактерий в воздухе составляло $4,1 \cdot 10^3$ КОЕ/м³ (на 35-е сутки выращивания птиц), как было показано с применением культуральных

методов и $2,3 \cdot 10^5$ клеток/м³ (на 35-е сутки выращивания птиц), как было показано с помощью количественной ПЦР.

Таким образом, при проведении анализов молекулярно-генетическим методом количественной ПЦР и классическими микробиологическими методами наблюдались сходные тенденции в изменении общей численности микроорганизмов. Тем не менее, разница между количеством микроорганизмов, определяемых молекулярно-генетическим способом и культуральными методами составляла на протяжении опыта от 21,0 до 90,3 раза в зависимости от помещения и времени отбора ($P \leq 0,05$). Вероятно, это связано с ограничениями культуральных методов, которые заключаются в невозможности анализа некультивируемых форм микроорганизмов.

На 35-е сутки выращивания птиц был дополнительно проведен анализ количества некоторых групп санитарно-показательных микроорганизмов в воздухе культуральными и молекулярно-генетическими методами (табл.).

Таблица

Результаты исследований некоторых групп санитарно-показательных микроорганизмов культуральными и молекулярно-генетическими методами

Культуральные методы, КОЕ (M ± m) в 1 м ³ воздуха		Молекулярно-генетические методы, клеток/м ³	
Помещение 1	Помещение 2	Помещение 1	Помещение 2
<i>Escherichia coli</i>			
$5,4 \pm 1,80 \cdot 10^2$	$5,2 \pm 0,18 \cdot 10^2$	$1,1 \pm 0,01 \cdot 10^4$	$1,0 \pm 0,0002 \cdot 10^5$
<i>Staphylococcus aureus</i>			
$5,4 \pm 0,29 \cdot 10^2$	$5,3 \pm 0,18 \cdot 10^2$	$9,9 \pm 0,07 \cdot 10^3$	$8,9 \pm 0,1 \cdot 10^3$
<i>Aspergillus spp.</i>			
$2,5 \pm 0,56 \cdot 10^2$	$2,4 \pm 0,17 \cdot 10^2$	$2,1 \pm 0,03 \cdot 10^3$	$2,1 \pm 0,04 \cdot 10^3$

С применением культуральных и молекулярно-генетических методов в воздухе птичников было выявлено присутствие санитарно-значимых бактерий *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и микромицета *Aspergillus spp.* (табл.).

В органической пыли птицефабрик различные группы микроорганизмов выявлялись и ранее [7].

В образцах также были обнаружены положительные на маннит стафилококки. *E. coli* присутствовала в 90 % проанализированных образцов пыли. Что касается обнаруженных нами в воздухе

Aspergillus spp., то многие виды из них признаны аллергенными штаммами [13]. Присутствие данного токсинообразующего гриба в воздухе может иметь связь с обнаружением микотоксинов в пыли на птицеводческих хозяйствах, что было показано ранее при проведении исследований [14]. Микотоксины, взвешенной в водяном паре, могут вдыхаться птицами и людьми, что также представляет опасность.

Из данных таблицы видно, что количество выявленных *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Aspergillus spp.* имеет отличие при использова-

нии разных методов анализа: культуральных и молекулярно-генетических. Количество выявленных при молекулярно-генетическими методами бактерий группы кишечной палочки в 19 раз больше, чем при использовании культуральных методов, количество стафилококков — в 18 раз больше, количество плесневых грибов — в 8 раз больше ($P \leq 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований нами установлено, что в процессе выращивания бройлеров происходит накопление микроорганизмов в воздухе закрытых помещений, включая санитарно-значимые (кишечная палочка, стафилококки, токсинообразующие грибы). Ранее микроорганизмы воздуха в птицеводствах, в основном, были исследованы с помощью культуральных методов. Как показали наши исследования, результаты, полученные традиционными методами микробиологии и молекулярными методами, сопоставимы. Однако использование молекулярно-генетических методов позволяет провести более точный анализ исследования микрофлоры воздуха при выращивании птиц. Возможно, использование данных методов в дальнейшем предоставит возможность сократить время анализа проб воздуха, произвести учет некультивируемых форм микроорганизмов, которые невозможно идентифицировать культуральными методами, что будет способствовать более эффективному проведению ветеринарно-санитарных мероприятий.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Health and Safety Executive. Statement of Evidence Respiratory Hazards of Poultry Dust. [Электронный ресурс] // URL: <http://www.hse.gov.uk/pubns/web40.pdf> (Дата обращения: 30.11.2022).
2. Rimac D. Exposure to poultry dust and health effects in poultry workers: Impact of mould and mite allergens. / Rimac D., Macan J., Varnai V. M., Vucemilo M., Matkovic K., Prester L., Orct T., Trosic I., Pavicic I. // Int. Arch. Occup. Environ. Health, — 2010—83—9—19 с.
3. Lugauskas A. Airborne fungi in industrial environments: Potential agents of respiratory diseases. / Lugauskas A., Krikstaponis A., Sveistyte L. // Ann. Agric. Environ. Med., — 2004—11—19—25 с.
4. Dutkiewicz J. Biological Occupational Risk Factors. / Dutkiewicz J., Spiewak R., Jabłoński L., Szymańska J. // Classification, Exposed Occupational Groups, Measurement, Prevention; Ad Punctum: Lublin, Poland, 2007.
5. Herron S. L. Nutrient composition of dust emitted from poultry broiler houses in Northwest Arkansas. / Herron S. L., Brye K. R., Sharpley A. N., Miller D. M., Daniels M. B. // J. Environ. Prot. — 2015—6—1257—1267 с.
6. Rusca S. Effects of bioaerosol exposure on work-related symptoms among Swiss sawmill workers. / Rusca S., Charrière N., Droz P. O., Oppliger A. // Int. Arch. Occup. Environ. Health 2008—81—415—421 с.
7. Skóra J. Evaluation of Microbiological and Chemical Contaminants in Poultry Farms. / Skóra J., Matusiak K., Wojewódzki P., Nowak A., Sulyok M., Ligocka A., Okrasa M., Hermann J., Gutarowska B. // Int J Environ Res Public Health. — 2016—13(2) — 192 с. doi: 10.3390/ijerph13020192.
8. Hugenholtz P. Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. / Hugenholtz P., Goebel B. M., Pace N. R. // Journal of Bacteriology. — 1998—4765—4774 с.
9. Nalian A., Oviedo-Rondón E.O., Dowd S. Effects of essential oil blends on intestinal microbiota of broilers challenged with mixed Eimeria species (In press). 2009.
10. Морозов В. Ю. Индикация микрофлоры воздуха закрытых помещений и ее влияние на чувствительность организма: Дис. ... канд. вет. наук: 16.00.03 Ставрополь, 2005 130 с. РГБ ОД, 61:05—16/211.
11. Скородумов Д. И., Субботин В. В. Микробиологическая диагностика бактериальных болезней животных. ИзографЪ. 2005.
12. Смирнова Л. И. Современные методы лабораторной диагностики стрептококковых инфекций животных: метод. пособие / Л. И. Смирнова, М. А. Кондратьева, Е. Ю. Антонен. — Санкт-Петербург: СПбГАВМ, 2005. — 32 с.
13. EUR-Lex. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the Protection of Workers from Risks Related to Exposure to Biological Agents at Work. [Электронный ресурс] // URL: http://www.biosafety.be/PDF/2000_54.pdf (Дата обращения: 30.11.2022).
14. Yang Z. Airborne microorganisms from livestock production systems and their relation to dust. / Yang Z., Aarnink A. J.A., de Jong M. C.M., Koerkamp P. W.G.G. // Cri. Rev. Environ. Sci. Technol. 2014—44—1071—1128.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

К. А. Калиткина — аспирант 1 курса, факультета зооинженерии и биотехнологий;

В. Ю. Морозов — доктор ветеринарных наук, доцент, заведующий кафедрой крупного животноводства;

В. И. Дорожкин — доктор биологических наук, профессор, академик РАН, руководитель научного направления Всероссийского научно-исследовательского института ветеринарной санитарии, гигиены и экологии — филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН;

И. П. Салеева — доктор сельскохозяйственных наук, профессор РАН, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник научного центра СПбГАУ;

Р. О. Колесников — кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры крупного животноводства;

А. Н. Черников — кандидат ветеринарных наук, директор института учебно-практического центра агротехнологий (на правах института);

М. С. Колесникова — кандидат ветеринарных наук, старший преподаватель кафедры крупного животноводства;

Х. Башир — магистрант кафедры крупного животноводства.

Статья поступила в редакцию 11.07.2023 г.

COMPARISON OF CULTURE AND MOLECULAR GENETIC METHODS FOR THE IDENTIFICATION OF SANITARY-INDICATORY MICROORGANISMS

Kseniya Andreevna Kalitkina*✉, Vitaliy Yuryevich Morozov*, Vasilii Ivanovich Dorozhkin**, Irina Pavlovna Saleeva*, Roman Olegovich Kolesnikov*, Aleksey Nikolaevich Chernikov*, Margarita Sergeevna Kolesnikova*, Khayrullamin Bashir*

*St. Petersburg State Agrarian University, Pushkin, St. Petersburg, Russia, kalitkina.xeniya@gmail.com✉;

**All-Russian Research Institute of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology — branch of FSBSI Federal Scientific Center — All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine of the RAS, Moscow, Russia

Abstract. The article presents the results of a comparison of culture and molecular genetic methods for identifying microorganisms in the air when rearing broilers in 2 rooms. The performed studies had found that the difference between the number of microorganisms determined by the molecular genetic method and culture methods was from 21.0 to 90.3 times during the experiment, depending on the rooms and time of selection. Thus, the use of molecular genetic methods makes it possible to reduce the time of air sample analysis, to take into account non-culturable forms of microorganisms that cannot be identified by culture methods.

Keywords: microorganisms, culture and molecular genetic methods, bacteria, indoor air

Intensive poultry farming is associated with a high concentration of organic dust in manure, litter and also in the air. Organic dust on poultry farms is a complex mixture of manure particles, feed, bedding, feathers, mites, bacteria, fungi, fungal spores and endotoxins [1].

The concentration of microorganisms can reach from 10^{14} CFU/g [2].

Mold genera such as *Acremonium*, *Alternaria*, *Aurobasidium*, *Aspergillus*, *Basidiospores*, *Cladosporium*, *Chrysosporium*, *Drechslera*, *Epicoccum*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Geomyces*, *Mucor*, *Penicillium*, *Pithomyces*, *Rhizomucor*, *Scopulariopsis* and *Ulocladium* have been reported to be found in organic dust [3].

Bacillus anthracis, *Chlamydia ornithosis*, *Salmonella choleraesuis* var., *Listeria monocytogenes*, *Mycoplasma* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. were found among the bacteria [4].

These microorganisms can be harmful to both poultry workers and poultry populations. There are indications in the literature that workers on poultry farms are exposed to higher levels of organic dust compared to workers on dairy farms and pig breeding farms [5].

Organic dust that enters the human respiratory system is associated with the occurrence of allergies, cancer, fibrosis, chronic obstructive pulmonary disease, asthma, chronic bronchitis, bronchial hyperreactivity, toxic syndrome, irritation of the mucous membranes of the conjunctiva and skin [6].

Most studies of the air microflora in poultry houses were performed using classical methods of microbiology: methods of aerobic and anaerobic cultivation on nutrient media, phenotypic characteristics of cultivated isolates, as well as light and electron microscopy [7]. However, the microflora, in particular, sanitary significant of various environments cannot be accurately identified and studied by these methods, since only a certain part of all microorganisms can be cultivated [8]. The use of molecular methods (sequencing and DNA PCR) improved the analysis of the composition of microbiocenosis of various media [9], which led to improved quality control of sanitary measures. Molecular techniques are increasingly being used to identify pathogens that are difficult to culture or have not been cultured to date.

Currently, there is limited information on the composition of organic dust present in the air at poultry

farms in our country [10]. More research is needed on the air microbiota, which may pose a threat to the health of workers and poultry. Comparison of culture and molecular genetic methods for the identification of microorganisms in the field of studying the air environment can reveal the advantages or limitations of one or the other and evaluate the efficacy of their use in scientific and applied research in the field of poultry farming.

The objective of the study was to assess microbiological air pollution when rearing broilers from 1 day to 35 days of age using culture and molecular genetic methods.

MATERIAL AND METHODS

The scientific and economic experiment was carried out in 2022 in the conditions of the educational and experimental farm of St. Petersburg State Agrarian University. The object of the study was the air of two rooms (No. 1 and No. 2) for keeping broilers of Ross-308 cross. The feeding and keeping conditions of the poultry were identical, taking into account the recommendations of “Aviagen” LLC. Poultry were fed *ad libitum* with granulated feed: Start (crumbles, 0—14 days), Growth (crumbles, 15—28 days), Finish (granules, 29—42 days). Broiler chickens were reared from day 1 till day 35 of age, the number of birds was 25 in each room.

Before placing the poultry, as well as on days 1, 7, 14, 21, 28 and 35 of rearing broilers, air microorganisms were collected from experimental boxes using a standardized device PU-1B (Russia, CJSC “Khimko”). The principle of the device operation is based on the impaction deposition of aerosols on a dense nutrient medium MPA (meat-peptone agar) in case of further use of culture methods and on saline in case of using molecular methods of analysis.

In the air environment of the rooms, the total number of microorganisms contained in 1 m³ of air, as well as their taxonomic composition, was determined using culture methods on the basis of the Laboratory of the Faculty of Zooengineering and Biotechnology and Molecular Genetic Methods at the Department of Feed Biotechnology of FSBEI HE SPbSAU.

Culture studies were carried out in accordance with the methodical manual and recommendations [11, 12]. Petri dishes with MPA medium, removed from the PU-1B device with the maximum possible observance of sterility conditions, were grown in a thermostat at a temperature of 37 °C for 24—48 hours. Accounting for the results was carried out by counting the number of grown colony-forming units (CFU) in the dynamics.

Differentiation of bacterial species was carried out on day 35 of rearing poultry according to morphological, tinctorial, cultural and biochemical properties and by inoculation on differential media. Identification of isolated cultures was carried out on day 35 of rearing poultry in accordance with the requirements represented in the Bergey’s Brief Classification of Bacteria (1997).

Molecular genetic studies were carried out in parallel with culture studies. Sampling was carried out with a PU-1B device; a sterile saline solution served as a medium for trapping organic dust. Total DNA was isolated from the samples using a DNA Purification Kit (Fermentas, Inc., Lithuania) following the manufacturer’s recommendations. The concentration of purified fragments was determined using a Qubit 2.0 fluorimeter (Invitrogen, Germany) according to the manufacturer’s recommendation.

The quantitative PCR method was used to study the total number of microorganisms. The quantitative PCR was carried out using a detecting DT Lite-4 amplifier (“NPO DNK-Technologiya” LLC, Russia) using a Reagent kit for real-time PCR in the presence of EVA Green intercalating dye (CJSC “Sintol”, Russia) and universal primers on the total number of bacteria (5’-3’) HDA1: ACT CCT ACG GGA GGC AGC AG, HDA2: GTA TTA CCG CGG CTG CTG GCA. The analysis was carried out in the dynamics throughout the experiment. To analyze the content of micromycetes of the genus *Aspergillus* on day 35 of rearing poultry, primers Asp1 CGGCCCTTAAATAGCCCGGTC, Asp2 ACCCCCTGAGCCAGTCCG were used. The following amplification conditions were used: 95 °C — 3 min. (1 cycle), 95 °C — 1 min., 57.6 °C — 1 min., 72 °C — 1 min. (40 cycles), 72 °C — 5min (1 cycle).

To study the composition of the microflora on day 35 of rearing poultry, the T-RFLP method (terminal restriction fragment length polymorphism) was chosen. Restriction (30—50 ng amplicons) was performed with HaeIII, HhaI and MspI enzymes (Fermentas, Lithuania). Restriction products were sequenced (CEQ 8000, Beckman Coulter, USA). To determine the phylogenetic affiliation of bacteria, the Fragment Sorter program and the database were used. The results obtained in the relative quantity (percentage of microorganisms in the total number) were converted into the absolute number of microorganisms, taking into account the data on the total bacterial content obtained by the quantitative PCR according to the formula:

$$X = \frac{TC(\text{cells/g}) \times RN(\%)}{100(\%)}$$

where X is the absolute number of microorganisms (cells/m³); TC — total content of bacteria, by the quantitative PCR; RN — relative number of bacteria by the T-RFLP method.

Numerical data were statistically processed using one-way analysis of variance and the Newman-Keuls multiple comparison test in the Primer of Biostatistics 4.03 program for Windows XP.

The results are presented as the means (M) and standard errors of means (\pm SEM). Significance of dif-

ferences was determined by the Student's t-test, differences were considered statistically significant at $P \leq 0.05$.

STUDY RESULTS

The results of comparative studies of the total number of bacteria in the air of rooms for rearing poultry in the dynamics, using culture methods and the molecular genetic method of the quantitative PCR, are shown in Fig. 1.

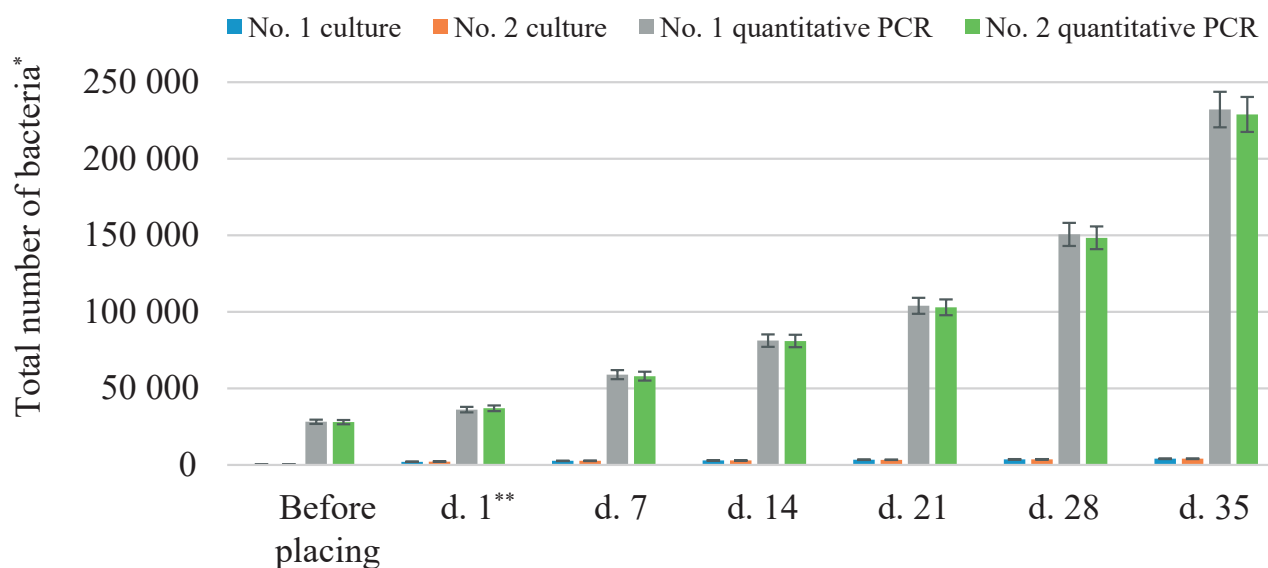


Fig. 1. Results of studies of the total number of bacteria in the air samples by the culture method and using the quantitative PCR, No. 1, 2 — numbers of rooms:

*CFU/m³ when using culture methods, cells/m³ when using the quantitative PCR method; **age of poultry at the time of the study

Fig. 1 shows that already on the first day after placing the chickens, the number of microorganisms in 1 m³ of air in the rooms No. 1 and No. 2 increased, compared to the moment before placing, which was shown both with the use of culture methods (by 5.2 and 7.1 times, depending on the rooms) ($P \leq 0.05$), and using the quantitative PCR (by 1.3 times in both rooms) ($P \leq 0.05$). Throughout the entire period of the experiment, with increasing age of the poultry, the microbial contamination increased ($P \leq 0.05$) in both rooms. A significant difference in the number of microorganisms in the air when comparing the room No. 1 and room No. 2 at all stages of sampling was not found ($P > 0.05$). Using culture methods, it was shown that the microbial pressure naturally increased from the level from placing on day 35 by 2.0 and 1.9 times ($P \leq 0.05$) in the rooms 1 and 2, respectively, using the quantitative PCR — by 6.4 and 6.2 times ($P \leq 0.05$). That is, the level of air contamination is likely to be

related to the vital activity of poultry, the presence of bedding material, compound feed and water.

In quantitative terms, the maximum content of bacteria in the air was $4.1 \cdot 10^3$ CFU/m³ (on day 35 of rearing poultry), as shown using the culture methods and $2.3 \cdot 10^5$ cells/m³ (on day 35 of rearing poultry), as shown by the quantitative PCR.

Thus, when conducting analyses by the molecular genetic method of the quantitative PCR and classical microbiological methods, similar trends were observed in the change in the total number of microorganisms. However, the difference between the number of microorganisms determined by the molecular genetic method and culture methods was from 21.0 to 90.3 times during the experiment, depending on the room and time of selection ($P \leq 0.05$). This is probably due to the limitations of culture methods, which consist in the impossibility of analyzing uncultivated forms of microorganisms.

On day 35 of rearing poultry, an additional analysis of the number of certain groups of sanitary-indicatory microorganisms in the air was carried out by culture and molecular genetic methods (Table).

Table

Results of studies of some groups of sanitary-indicatory microorganisms by culture and molecular genetic methods

Culture methods, CFU (M ± m) in 1 m ³ of air		Molecular genetic methods, cells/m ³	
Room 1	Room 2	Room 1	Room 2
<i>Escherichia coli</i>			
5.4 ± 1.80·10 ²	5.2 ± 0.18·10 ²	1.1 ± 0.01·10 ⁴	1.0 ± 0.0002·10 ⁵
<i>Staphylococcus aureus</i>			
5.4 ± 0.29·10 ²	5.3 ± 0.18·10 ²	9.9 ± 0.07·10 ³	8.9 ± 0.1·10 ³
<i>Aspergillus spp.</i>			
2.5 ± 0.56·10 ²	2.4 ± 0.17·10 ²	2.1 ± 0.03·10 ³	2.1 ± 0.04·10 ³

Using culture and molecular genetic methods, the presence of sanitary significant bacteria *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and micromycete *Aspergillus spp.* was revealed in the air of poultry houses (Table).

In the organic dust of poultry farms, various groups of microorganisms were detected earlier [7]. Staphylococci positive for mannitol were also found in the samples. *E. coli* was present in 90 % of the analyzed dust samples.

As for *Aspergillus spp.*, found by us in the air, many species of them are recognized as allergenic strains [13]. The presence of this toxin-producing fungus in the air may be associated with the detection of mycotoxins in dust on poultry farms, which was shown earlier in the studies [14]. Mycotoxins suspended in water vapor can be inhaled by poultry and humans, which is also a hazard.

From the data of Table 1 it can be seen that the number of identified *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Aspergillus spp.* differs when using different methods of analysis: culture and molecular genetic methods. The number of bacteria of the *Escherichia coli* group detected by molecular genetic methods is by 19 times more than when using culture methods, the number of staphylococci is by 18 times more, the number of mold fungi is by 8 times more ($P \leq 0.05$).

CONCLUSION

As a result of the research, we found that in the process of rearing broilers, microorganisms accumulate in the indoor air, including sanitary ones (*E. coli*, staphylococci, toxin-forming fungi). Previously, air-

borne microorganisms on poultry farms were mainly investigated using culture methods. As our studies have shown, the results obtained by traditional methods of microbiology and molecular methods are comparable. However, the use of molecular genetic methods allows for a more accurate analysis of the study of air microflora in poultry rearing. It is possible that the use of these methods in the future will provide an opportunity to reduce the time of air sample analysis, to take into account nonculture forms of microorganisms that cannot be identified by culture methods, which will contribute to more efficient veterinary and sanitary measures.

REFERENCES

1. Health and Safety Executive. Statement of Evidence Respiratory Hazards of Poultry Dust. [Electronic source] // URL: <http://www.hse.gov.uk/pubns/web40.pdf> (Access date: 30.11.2022).
2. Rimac D. Exposure to poultry dust and health effects in poultry workers: Impact of mould and mite allergens. / Rimac D., Macan J., Varnai V. M., Vucemilo M., Matkovic K., Prester L., Orct T., Trosic I., Pavicic I. // Int. Arch. Occup. Environ. Health, — 2010—83—9—19 p.
3. Lugauskas A. Airborne fungi in industrial environments: Potential agents of respiratory diseases. / Lugauskas A., Krikstaponis A., Sveistyte L. // Ann. Agric. Environ. Med., — 2004—11—19—25 p.
4. Dutkiewicz J. Biological Occupational Risk Factors. / Dutkiewicz J., Śpiewak R., Jabłoński L., Szymańska J. // Classification, Exposed Occupational Groups, Measurement, Prevention; Ad Punctum: Lublin, Poland, 2007.
5. Herron S. L. Nutrient composition of dust emitted from poultry broiler houses in Northwest Arkansas. / Her-

ron S. L., Brye K. R., Sharpley A. N., Miller D. M., Daniels M. B. // J. Environ. Prot. — 2015—6—1257—1267 p.

6. *Rusca S.* Effects of bioaerosol exposure on work-related symptoms among Swiss sawmill workers. / *Rusca S., Charrière N., Droz P. O., Oppliger A.* // Int. Arch. Occup. Environ. Health 2008—81—415—421 p.

7. *Skóra J.* Evaluation of Microbiological and Chemical Contaminants in Poultry Farms. / *Skóra J., Matusiak K., Wojewódzki P., Nowak A., Sulyok M., Ligocka A., Okrasa M., Hermann J., Gutarowska B.* // Int J Environ Res Public Health. — 2016—13(2) — 192 c. doi: 10.3390/ijerph13020192.

8. *Hugenholtz P.* Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. / *Hugenholtz P., Goebel B. M., Pace N. R.* // Journal of Bacteriology. — 1998—4765—4774 p.

9. *Nalían A., Oviedo-Rondón E.O., Dowd S.* Effects of essential oil blends on intestinal microbiota of broilers challenged with mixed *Eimeria* species (In press). 2009.

10. *Morozov V. Yu.* Indication of the microflora of indoor air and its effect on the sensitivity of the organism: Thesis ... Cand. of Vet. Sciences: 16.00.03 Stavropol, 2005 130 p. RSL OD, 61:05—16/211.

11. *Skorodumov D. I., Subbotin V. V.* Microbiological diagnostics of bacterial animal diseases. Isograph. 2005.

12. *Smirnova L. I.* Modern methods of laboratory diagnosis of streptococcal infections in animals: method. rationale / L. I. Smirnova, M. A. Kondratyeva, E. Yu. Antonen. — St. Petersburg: SPbGAVM (SPbSAVM), 2005. — 32 p.

13. EUR-Lex. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the Protection of Workers from Risks Related to Exposure to Biological Agents at Work. [Electronic source] // URL: http://www.biosafety.be/PDF/2000_54.pdf (Access date: 30.11.2022).

14. *Yang Z.* Airborne microorganisms from livestock production systems and their relation to dust. / *Yang Z., Aarnink A. J.A., de Jong M. C.M., Koerkamp P. W.G.G.* // Cri. Rev. Environ. Sci. Technol. 2014—44—1071—1128.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

K. A. Kalitkina — 1st year Postgraduate Student, Faculty of Zooengineering and Biotechnology;

V. Yu. Morozov — Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Large Animal Husbandry;

V. I. Dorozhkin — Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of the RAS, Head of the Scientific Field of ARRIVSHE — branch of FSBSI FSC — ARRIEVM of the RAS;

I. P. Saleeva — Doctor of Agricultural Sciences, Professor of the RAS, Corresponding Member of the RAS, Chief Scientific Associate of the Scientific Center of SPbSAU;

R. O. Kolesnikov — Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Large Animal Husbandry;

A. N. Chernikov — Candidate of Veterinary Sciences, Director of the Institute of the Training and Practical Center for Agrotechnologies;

M. S. Kolesnikova — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Lecturer of the Department of Large Animal Husbandry;

Kh. Bashir — Candidate for a Master's Degree of the Department of Large Animal Husbandry.

The article was submitted 11.07.2023.

ПАТОФИЗИОЛОГИЯ, ПАТОБИОХИМИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

Научная статья

УДК 619:612.017:577.121:618.14—002: 636.4

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2023.3.105

ИММУНО-БИОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ У СВИНОМАТОК ПРИ ПАТОЛОГИЧЕСКОМ ТЕЧЕНИИ ПОСЛЕРОВОДОВОГО ПЕРИОДА

**Юрий Николаевич Бригадиров, Владимир Николаевич Коцарев,
Ирина Сергеевна Перепелкина, Игорь Александрович Болдырев,
Лилия Валерьевна Ческидова[✉], Галина Николаевна Близнецова,
Галина Васильевна Никоненко**

*Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии,
фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, lvcheskidova@yandex.ru[✉]*

Аннотация. В статье представлены результаты изучения иммуно-биохимического статуса свиноматок при развитии гнойно-катарального эндометрита и ММА в послеродовой период. В крови 12 свиноматок помеси крупной белой породы и ландраса за 10 дней до опороса и перед отъемом поросят определяли содержание лейкоцитов, эритроцитов и гемоглобина, промежуточных продуктов свободнорадикального окисления липидов (МДА), маркеров нитрозивной (NOx) и эндогенной интоксикации (МСМ и ИЭИ), активность ферментативного (каталаза и ГПО) и уровень неферментативного (витамины А и Е) звена системы антиоксидантной защиты, показатели иммунитета (общие иммуноглобулины, ЦИК, БАСК, ЛАСК, ФАЛ, ФЧ, ФИ, Т- и В-лимфоциты). По сравнению с клинически здоровыми свиноматками у животных с риском развития гнойно-катарального эндометрита и ММА при недостаточном функционировании антиоксидантной системы, на фоне повышенной активности процессов перекисного окисления липидов и нитрозивного стресса выявлено снижение общей неспецифической резистентности, ведущее к проявлению воспалительного процесса в половых органах в послеродовой период. Кроме того, и после выздоровления иммуно-биохимический статус переболевших свиноматок отличается от здоровых животных, что может препятствовать выработке у них эффективной защиты в ответ на антигенную и токсическую нагрузку.

Ключевые слова: антиоксидантная защита, эндогенная интоксикация, общая неспецифическая резистентность, послеродовой эндометрит и ММА, свиноматки

В развитии послеродовой патологии у свиноматок особая роль отводится нарушениям иммунологической реактивности организма, которые приводят к повышенной восприимчивости животных к различным патогенам. Перевод свиноводства на промышленную основу характеризуется круглогодичным безвыгульным содержанием поголовья большими технологически группами, ранним отъемом поросят, перегруппировками, вакцинациями и применением химиотерапевтических препаратов, что существенно влияет на состояние общей неспецифической резистентности организма животных и специфического иммунитета [1, 2].

Система неспецифической резистентности организма реагирует на микроорганизмы, чужеродные клетки и токсические вещества, используя для защиты воспаление, фагоцитоз и гуморальные факторы [3, 4].

Недостаточность какого-то звена неспецифического иммунитета до определенной степени компенсируется за счет нормальной или повышенной активности других компонентов, но определенный период может произойти срыв защитных реакций, характеризующийся общей иммунной недостаточностью и развитием хронического воспаления [5].

© Бригадиров Ю. Н., Коцарев В. Н., Перепелкина И. С., Болдырев И. А., Ческидова Л. В., Близнецова Г. Н., Никоненко Г. В., 2023

Общим патогенетическим фактором развития патологического состояния у свиноматок выступает свободнорадикальная патология, которая инициирует генерацию активных форм кислорода и окислительный стресс, приводящих к избыточной выработке свободных радикалов и деструкции клеточных мембран при нарушении функционального состояния системы антиоксидантной защиты [6, 7].

Эндогенная интоксикация сопровождается различными патологическими процессами и определяет степень тяжести течения заболевания [8, 9].

При многих состояниях, сопровождаемых синдромом эндогенной интоксикации, установлено повышение количества средне-молекулярных пептидов [10, 11].

В механизме развития окислительного стресса и функционирования системы антиоксидантной защиты организма активно участвует оксид азота [12].

Его влияние на отдельно протекающие процессы в различных тканях является неоднозначным и разнонаправленным. Система оксида азота может оказывать тормозящее действие на течение процесса перекисного окисления липидов, замедлять синтез многих потенциальных активаторов липидной перекисидации, участвовать в регуляции физиологических процессов и в патогенезе акушерских патологий. Эффекты действия оксида азота зависят от его концентрации в клетках [13—15].

Цель исследований — изучить иммуно-биохимический профиль у животных с риском развития послеродовой патологии до опороса и перед отъемом поросят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проведены на 12 свиноматках породы крупной белой породы и ландраса, с массой тела 180—240 кг, которых ретроспективно после опороса разделили на две группы. В первой группе были здоровые животные, во второй — с гнойно-катаральным эндометритом и ММА (у больных свиноматок через 1—2 после опороса регистрировали угнетенное состояние, повышение температуры тела в течение 2—3 дней, патологические выделения из половых органов, воспаление молочной железы, которые прекращались через 5 дней после проведенной терапии).

От свиноматок за 10 дней до опороса и перед отъемом поросят брали пробы крови для изучения морфологических показателей крови, системы ПОЛ-АОЗ и иммунного статуса.

Эритроциты, лейкоциты, гемоглобин, гематокрит и лейкоформулу определяли с помощью гематологического анализатора ABX MICRO S60 и стандартных методик подсчета клеток. Содержание общих иммуноглобулинов, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), Т- и В-лимфоцитов, бактерицидную активность сыворотки крови (БАСК), лизоцимную активность сыворотки крови (ЛАСК), фагоцитарную активность лейкоцитов (ФАЛ), фагоцитарное число (ФЧ), фагоцитарный индекс (ФИ), устанавливали в соответствии с утвержденными методиками [3, 16].

Оценку состояния системы антиоксидантной защиты и уровня эндогенной интоксикации в крови проводили с помощью спектрофотометра UV-1700 «Shimadzu». Для этого определяли активность каталазы и глутатионпероксидазы (ГПО), концентрацию витамина А и Е, малонового диальдегида (МДА), стабильных метаболитов оксида азота (NO_x), веществ средней молекулярной массы (МСМ) с последующим расчетом индекса эндогенной интоксикации (ИЭИ) [17].

Для статистической обработки полученных экспериментальных данных использовали пакет прикладных программ Microsoft Excel. Выборочные средние величины признаков, распределение которых подчинялось нормальному закону, сравнивали по t-критерию Стьюдента; различия считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследование крови от свиноматок за 10 дней до предполагаемого опороса не выявило статистически достоверной разницы между группами животных по содержанию эритроцитов, гемоглобина, гематокрита и лейкоцитов (табл. 1). Однако в лейкоформуле у свиноматок второй группы по сравнению с первой отмечали повышение количества палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов на 83,7 % и 12,4 % соответственно, при снижении числа моноцитов на 42,9 %.

Перед отъемом поросят у свиноматок второй группы в сравнении с первой количество эритроцитов было ниже на 7,1 %, гемоглобина на 5,0 % и гематокрита на 6,8 %. В крови животных, перенесших после родов эндометрит и ММА, наблюдали повышенное содержание лейкоцитов на 8,2 %, палочкоядерных нейтрофилов в 1,6 раза и лимфоцитов на 6,5 %.

Изменение показателей общего неспецифического иммунитета у свиноматок первой и второй групп в течение опыта представлены в таблице 2.

Таблица 1

Показатели крови у свиноматок

Показатели	за 10 дней до опороса		перед отъемом поросят	
	I	II	I	II
Эритроциты, $10^{12}/л$	$6,5 \pm 0,19$	$6,3 \pm 0,12$	$6,0 \pm 0,18$	$5,8 \pm 0,08^*$
Гемоглобин, г/л	$123,6 \pm 2,98$	$122,4 \pm 1,84$	$115,8 \pm 2,29$	$109,0 \pm 1,46^*$
Гематокрит, %	$39,6 \pm 0,68$	$38,8 \pm 0,88$	$37,2 \pm 1,17$	$34,6 \pm 0,73^*$
Лейкоциты, $10^9/л$	$12,2 \pm 0,24$	$12,7 \pm 0,24$	$11,5 \pm 0,29$	$12,5 \pm 0,27^*$
Палочкоядерные нейтрофилы, %	$1,4 \pm 0,25$	$2,6 \pm 0,20^{**}$	$2,6 \pm 0,51$	$4,1 \pm 0,40^*$
Сегментоядерные нейтрофилы, %	$32,8 \pm 1,43$	$36,9 \pm 1,30^*$	$49,4 \pm 1,36$	$45,3 \pm 1,87$
Эозинофилы, %	$8,6 \pm 1,08$	$7,6 \pm 0,75$	$3,6 \pm 0,60$	$3,1 \pm 0,26$
Моноциты, %	$2,0 \pm 0,32$	$1,1 \pm 0,14^*$	$1,6 \pm 0,40$	$1,9 \pm 0,26$
Лимфоциты, %	$55,2 \pm 1,77$	$51,8 \pm 1,96$	$42,8 \pm 0,97$	$45,6 \pm 1,13^*$

* $p < 0,05$

** $p < 0,005$ относительно I группы

Таблица 2

Показатели общей неспецифической резистентности свиноматок

Показатели	За 10 дней до опороса		Перед отъемом поросят	
	I	II	I	II
Лимфоциты, $10^9/л$	$6,80 \pm 0,10$	$6,58 \pm 0,08$	$4,92 \pm 0,08$	$5,54 \pm 0,07^{**}$
Т-лимфоциты, $10^9/л$	$2,90 \pm 0,06$	$1,68 \pm 0,03^{**}$	$1,81 \pm 0,06$	$2,2 \pm 0,07^{**}$
В-лимфоциты, $10^9/л$	$1,42 \pm 0,06$	$1,81 \pm 0,04^{**}$	$0,79 \pm 0,06$	$0,93 \pm 0,04^*$
Фагоцитарная активность лейкоцитов, %	$77,2 \pm 1,29$	$81,7 \pm 1,99^*$	$79,6 \pm 1,33$	$75,80 \pm 1,45^*$
Фагоцитарное число	$4,02 \pm 0,07$	$4,59 \pm 0,06^{**}$	$5,96 \pm 0,09$	$5,25 \pm 0,07^{**}$
Фагоцитарный индекс	$5,28 \pm 0,08$	$5,69 \pm 0,07^{**}$	$7,82 \pm 0,12$	$6,73 \pm 0,08^{**}$
Бактерицидная активность сыворотки крови, %	$68,18 \pm 0,81$	$66,19 \pm 1,53$	$56,4 \pm 0,58$	$62,5 \pm 1,43^{**}$
Лизоцимная активность сыворотки крови, мг/л	$0,70 \pm 0,06$	$0,52 \pm 0,03^*$	$1,38 \pm 0,18$	$1,51 \pm 0,4$
Общие иммуноглобулины, г/л	$28,80 \pm 0,79$	$26,4 \pm 0,34^{**}$	$34,6 \pm 0,56$	$36,2 \pm 0,68$
Циркулирующие иммунные комплексы, г/л	$0,58 \pm 0,06$	$0,62 \pm 0,03$	$0,62 \pm 0,06$	$0,73 \pm 0,03$

* $p < 0,05—0,02$

** $p < 0,005—0,001$ относительно I группы

За 10 дней до опороса, при сравнительно одинаковом уровне в крови свиноматок количества лимфоцитов, у животных второй группы содер-

жание Т-лимфоцитов было ниже на 42,1 %, а абсолютное число В-лимфоцитов выше на 27,5 %. При этом, уменьшение концентрации общих им-

муноглобулинов по сравнению с первой группой на 8,3 % свидетельствовало о нарушении трансформации В-лимфоцитов в плазмоциты, синтезирующих антитела.

Исследование клеточного звена иммунной системы показало, что у свиноматок второй группы по сравнению с клинически здоровыми животными при более низком содержании Т-лимфоцитов на 7,6 % и ЛАСК на 25,7 % отмечена высокая активность нейтрофилов. Так, фагоцитарная активность лейкоцитов была выше на 5,8 %, фагоцитарный индекс и фагоцитарное число на 7,8 % и 14,2 % соответственно.

Показатели общей неспецифической резистентности у свиноматок второй группы перед отъемом поросят характеризовались ростом количества лимфоцитов на 12,6 %, Т- и В-лимфоцитов — на 21,5 % и 17,7 % соответственно, на фоне более низкой фагоцитарной активности лейкоцитов на 4,8 %, ФИ и ФЧ на 13,9 % и 11,9 % соответственно.

В тоже время у переболевших животных показатели гуморального звена неспецифической резистентности: бактерицидной и лизоцимной ак-

тивности сыворотки крови были выше на 10,8 % и 9,4 % соответственно, общих иммуноглобулинов и циркулирующих иммунных комплексов на 4,6 % и 17,7 % соответственно.

Таким образом, у свиноматок, заболевших после родов эндометритом и ММА, за 10 дней до предполагаемого опороса наблюдается напряженность защитных систем организма. При этом показатели общей неспецифической резистентности и после выздоровления отличаются от здоровых животных, что требует дальнейшего изучения для понимания их роли в патогенезе послеродовой патологии и значения для прогнозирования.

При изучении процессов свободно-радикального окисления и системы антиоксидантной защиты за 10 дней до опороса установлено, что у подопытных животных во второй группе концентрация малонового диальдегида была выше на 23,7 % (табл. 3). Более высокая интенсивность процессов перекисного окисления липидов вместе с увеличенным содержанием молекул средней массы λ_{238} на 8,3 % и λ_{254} на 7,7 % привела к росту индекса эндогенной интоксикации на 23,0 %.

Таблица 3

Показатели эндогенной интоксикации и антиоксидантной защиты у свиноматок

Показатели	За 10 дней до опороса		Перед отъемом поросят	
	I	II	I	II
МДА, мкмоль/л	1,18 ± 0,07	1,46 ± 0,05*	1,29 ± 0,07	1,43 ± 0,05
МСМ ₂₃₈ , у. е.	0,72 ± 0,06	0,78 ± 0,04	0,58 ± 0,06	0,67 ± 0,04
МСМ ₂₅₄ , у. е.	0,26 ± 0,06	0,28 ± 0,04	0,32 ± 0,06	0,36 ± 0,04
ИЭИ, у. е.	14,80 ± 0,48	18,20 ± 0,45**	12,8 ± 0,42	15,6 ± 0,39**
NO _x , мкмоль/л	126,40 ± 6,11	174,3 ± 4,40**	52,6 ± 1,73	70,5 ± 1,77**
Каталаза, ммоль H ₂ O ₂ /л·мин	28,60 ± 0,94	32,30 ± 0,81*	24,6 ± 0,81	28,8 ± 0,72**
ГПО, ммоль GSH/л·мин	12,40 ± 0,41	9,41 ± 0,23**	10,8 ± 0,35	9,62 ± 0,24*
Витамин А, мкмоль/л	1,14 ± 0,07	0,89 ± 0,04*	1,28 ± 0,07	1,04 ± 0,04*
Витамин Е, мкмоль/л	14,80 ± 0,48	12,1 ± 0,30**	15,8 ± 0,52	12,9 ± 0,32**

* $p < 0,02—0,01$

** $p < 0,005—0,001$ относительно I группы

У свиноматок с риском развития послеродовой патологии окислительное напряжение сопровождается изменением функционирования ферментативного и неферментативного звена антиоксидантной

системы: снижением активности глутатионпероксидазы на 24,1 %, концентрации витамина А на 21,9 % и витамина Е на 18,2 %. Повышение активности каталазы на 12,9 %, возможно, связано

с накоплением первичных продуктов липопероксидации и возросшим метаболизмом в нейтрофилах и макрофагах при котором нарастает содержание активных форм кислорода, в обезвреживании которых участвует каталаза [18].

Концентрация оксида азота, который расслабляет гладкую мускулатуру матки, поддерживая матку в состоянии покоя во время беременности, участвует в регуляции родов, является важной частью иммунитета, у свиноматок второй группы по сравнению с первой группой была выше на 37,9 %. В связи с тем, что оксид азота также является сигнальной молекулой, участвующей в окислительном стрессе и воспалении, повышенная интенсивность его выработки в период беременности у свиноматок, переболевших эндометритом и ММА в послеродовом периоде, может быть связана как с реализацией его защитной функции от проникновения патогенов, так и с развитием нитрозативного стресса.

Исследование крови подопытных свиноматок перед отъемом поросят показало, что во второй группе по сравнению со здоровыми животными была выше концентрация малонового диальдегида на 10,9 %, молекул средней массы λ_{238} и λ_{254} на 15,5 % и 12,5 % соответственно, ИЭИ на 21,9 %, что свидетельствует о более активном течении у них процессов перекисного окисления липидов и росте эндогенной интоксикации.

При этом активность глутатионпероксидазы в крови свиноматок второй группы была ниже на 10,9 %, а каталазы, напротив, выше на 17,1 %, что связано с повышенной интенсивностью окислительных процессов и накоплением первичных продуктов пероксидации, а также ролью каталазы в модуляции нитрозативного стресса путем окисления нитритов до нитратов [19].

Содержание витамина А по сравнению со здоровыми животными было меньше на 18,8 %, а витамина Е на 18,4 %, что, по-видимому, является результатом повышенного расхода на поддержание окислительно-восстановительных процессов в организме свиноматок.

Концентрация оксида азота, который играет существенную роль в патогенезе различных патологий, в том числе, в прогрессировании хронического воспаления, у свиноматок второй группы превышала данный показатель у животных первой группы на 34,0 % [20].

Таким образом, повреждающее действие токсических продуктов метаболизма белков и липидов, токсинов микробного происхождения при недостаточности детоксикационных и антиоксидан-

тельных факторов организма до родов приводит к снижению общей резистентности свиноматок после опороса. При этом повышенный расход резервов иммунной и антиоксидантной систем в ответ на антигенную и токсическую нагрузку может привести к нарушению механизмов защиты в организме животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одним из ведущих патогенных факторов развития послеродового воспалительного процесса в репродуктивных органах у свиноматок является нарушение окислительно-антиоксидантного баланса, что приводит к окислительному стрессу. Свободнорадикальное окисление у свиноматок с гнойно-катаральным эндометритом и ММА по сравнению со здоровыми животными проходит на более высоком уровне с нарастанием эндогенной интоксикации, при ослаблении антиоксидантного потенциала организма. Наблюдается также повышение выработки оксида азота и снижение показателей общей неспецифической резистентности.

В связи с тем, что разные периоды полового цикла характеризуются определенным состоянием метаболизма, для восстановления репродуктивного здоровья животных при воспалительных процессах в матке требуется комплексный подход, включающий использование препаратов для коррекции интенсивности свободнорадикальных реакций, повышения антиоксидантного статуса и неспецифической резистентности в организме свиноматок.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Сашнина Л. Ю.* Эпизоотическая ситуация по репродуктивным болезням свиней в хозяйствах промышленного типа, этиология и клинико-экспериментальное обоснование применения новых средств их профилактики и терапии: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. — М., 2013. — 54 с.
2. *Шубина Т. П.* Морфология некоторых лимфоидных органов свиней в постнатальном онтогенезе / Т. П. Шубина, Н. В. Чапорова // Ветеринарная патология. — 2015. — № 1 (51). — С. 64—68.
3. *Шахов А. Г.* Методические рекомендации по оценке и коррекции иммунного статуса животных / А. Г. Шахов, Ю. Н. Масьянов, М. И. Рецкий и др. — Воронеж: Истоки, 2005. — 116 с.
4. *Шахов А. Г.* Цитокиновый профиль у свиноматок с риском развития послеродовой патологии в разные периоды репродуктивного цикла / А. Г. Шахов, Л. Ю. Сашнина, Ю. Ю. Владимирова, К. О. Акулова, Г. В. Николенко, Е. А. Андрианов // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2023. — № 1 (22). — С. 129—138.

5. Попов В. С. Этиологические особенности иммунодефицитов у свиней в условиях промышленной технологии / В. С. Попов, Н. В. Самбуров, А. А. Зорикова // Вестник Курской государственной академии. — 2015. — № 4. — С. 63—67.
6. Виноградова О. П. О маркерах степени тяжести синдрома эндогенной интоксикации при воспалительных заболеваниях органов малого таза в гинекологии / О. П. Виноградова, Г. П. Гладилин, М. Н. Кузнецова и др. // Фундаментальные исследования. — 2012. — № 8 (1). — С. 60—63.
7. Branko A. Bacteria associated with clinical postpartum dysgalactia syndrome in farmed sows in the Republic of Macedonia / A. Branko, A. Cvetkovikj, Sl. Mrenoshki et al. // Turk J Vet Anim Sci. — 2016. — N240. — P. 776—781.
8. Bel'skaya L. V. Endogenous intoxication and saliva lipid peroxidation in patients with lung cancer / L. V. Bel'skaya, V. K. Kosenok, G. Massard // Diagnostics (Basel). — 2016. — N6 (4). — P. 39.
9. Gotardo A. T. Intoxication by cyanide in pregnant sows: prenatal and postnatal evaluation / A. T. Gotardo, I. M. Hueza, H. Manzano et al. // J Toxicol. — 2015. — N2015. — P. 407654.
10. Владыка А. С. Средние молекулы и проблема эндогенной интоксикации при критических состояниях различной этиологии / А. С. Владыка, Э. В. Левицкий, Л. П. Поддубная и др. // Анестезия и реаниматология. — 1987. — № 1—2. — С. 37—42.
11. Gutyj B. The impact of endogenous intoxication on biochemical indicators of blood of pregnant cows. / B. Gutyi, Y. Grymak, M. Drach et al. // Regulatory Mechanisms in Biosystems. — 2017. — № 8. — P. 438—443.
12. Song X. Dynamic analysis of nitric oxide and total oxidant capacity in cow uterine secretion with subclinical endometritis / X. Song, D. Li, F. Guo-feng et al. // Journal of Northeast Agricultural University (English Edition). — 2015. — V. 22. — I. 1. — P. 35—39.
13. Кузнецова В. Л. Оксид азота: свойства, биологическая роль, механизмы действия / В. Л. Кузнецова, А. Г. Соловьева // Современные проблемы науки и образования. — 2015. — № 4. — С. 462.
14. Hogg N. Nitric oxide and lipid peroxidation / N. Hogg, B. Kalyanaraman // Biochim Biophys Acta. — 1999. — v. 1411. — N2—3. — P. 378—384.
15. Tschakovsky M. E. Nitric oxide and muscle blood flow in exercise / M. E. Tschakovsky, M. J. Joyner // Appl Physiol Nutr Metab. — 2008. — v. 33. — I. 1. — P. 151—160.
16. Шахов А. Г. Методические рекомендации по оценке и коррекции неспецифической резистентности животных / А. Г. Шахов, Ю. Н. Бригадиров, А. И. Ануфриев и др. — Воронеж: Истоки, 2005. — 62 с.
17. Рецкий М. И. Методические рекомендации по диагностике, терапии и профилактике нарушений обмена веществ у продуктивных животных / М. И. Рецкий, А. Г. Шахов, В. И. Шушлебин и др. // Воронеж: Истоки, 2005. — 94 с.
18. Исаков В. А. Молекулярно-генетические основы патогенности *Helicobacter pylori* / В. А. Исаков // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. — 2002. — № (12) 6. — С. 82—85.
19. Silanikove N. Lipopolysaccharide challenge of the mammary gland in cows induces nitrosative stress that impairs milk oxidative stability / N. Silanikove, A. Rauch-Cohen, F. Shapiro et al. // Animal. — 2012. — N6 (9). — P. 1451—1459.
20. Постникова Л. Б. Нитрозивный стресс и растворимые дифференцировочные молекулы при обострении хронической обструктивной болезни легких / Н. И. Кубышева, М. В. Болдина, Т. В. Ли, И. А. Климанов, В. В. Новиков // Пульмонология. — 2012. — № 1. — С. 35—39.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

- Ю. Н. Бригадиров** — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник;
В. Н. Коцарев — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник;
И. С. Перепелкина — младший научный сотрудник;
И. А. Болдырев — соискатель;
Л. В. Ческидова — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник;
Г. Н. Близнецова — доктор биологических наук, главный научный сотрудник;
Г. В. Никоненко — младший научный сотрудник.

Статья поступила в редакцию 14.06.2023 г.

PATHOPHYSIOLOGY, PATHOBIOCHEMISTRY AND EXPERIMENTAL THERAPY

Original article

UDC 619:612.017:577.121:618.14—002:636.4

IMMUNOBIOCHEMICAL PROFILE IN THE SOWS WITH A PATHOLOGICAL POSTPARTUM PERIOD

**Yuriy Nikolaevich Brigadirov, Vladimir Nikolaevich Kotsarev, Irina Sergeevna Perepelkina,
Igor Aleksandrovich Boldyrev, Liliya Valeryevna Cheskidova[✉], Galina Nikolaevna Bliznetsova,
Galina Vasilyevna Nikonenko**

*All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy,
Voronezh, Russia, lvcheskidova@yandex.ru[✉]*

Abstract. The article presents the results of the study of the immunobiochemical status of the sows with the development of purulent-catarrhal endometritis and MMA in the postpartum period. In the blood of 12 crossbreed sows (Large White and Landrace) 10 days before farrowing and before weaning piglets, there were determined the content of leukocytes, erythrocytes and hemoglobin, intermediate products of free radical lipid oxidation (MDA), markers of nitrosive (NO_x) and endogenous intoxication (MWM and IEI), activity of the enzymatic (catalase and GPO) and the level of the non-enzymatic (vitamins A and E) link of the antioxidant defense system, immunity indicators (total immunoglobulins, CIC, SBA, SLA, PAN, PhN, PhI, T- and B-lymphocytes). Compared with clinically healthy sows, in the animals at risk of purulent-catarrhal endometritis and MMA development with insufficient functioning of the antioxidant system, against the background of increased activity of lipid peroxidation and nitrosive stress, a decrease in overall nonspecific resistance was revealed, leading to the manifestation of an inflammatory process in the genital organs in the postpartum period. In addition, even after recovery, the immunobiochemical status of recovered sows differs from healthy animals, which may prevent them from the development of effective protection in response to antigenic and toxic load.

Keywords: antioxidant protection, endogenous intoxication, general nonspecific resistance, postpartum endometritis and MMA, sows

In case of the postpartum pathology development in sows, a special role is given to the disorders of the body's immunological reactivity, which lead to increased susceptibility of animals to various pathogens. The transition of pig breeding to an industrial basis is characterized by year-round non-walking maintenance of livestock in large technological groups, early weaning of piglets, rearrangements, vaccinations and the use of chemotherapeutic drugs, which significantly affects the state of general nonspecific resistance of the animal organism and specific immunity [1, 2].

The body's nonspecific resistance system reacts to microorganisms, foreign cells and toxic substances, using inflammation, phagocytosis and humoral factors for protection [3, 4].

The insufficiency of some link of nonspecific immunity is compensated to a certain extent due to the

normal or increased activity of other components, but for a certain period there may be a breakdown of protective reactions, characterized by general immune deficiency and the chronic inflammation development [5].

A common pathogenetic factor in the development of a pathological state in sows is a free radical pathology, which initiates the generation of reactive oxygen species and oxidative stress, leading to excessive production of free radicals and destruction of cell membranes in violation of the functional state of the antioxidant defense system [6, 7]. Endogenous intoxication accompanies various pathological processes and determines the severity of the disease [8, 9]. In case of many states accompanied by the syndrome of endogenous intoxication, an increase in the amount of medium molecular weight peptides has been established [10, 11].

© Brigadirov Yu. N., Kotsarev V. N., Perepelkina I. S., Boldyrev I. A., Cheskidova L. V., Bliznetsova G. N., Nikonenko G. V., 2023

Nitric oxide is actively involved in the mechanism of the oxidative stress development and functioning of the antioxidant defense system of the body [12].

Its effect on separately occurring processes in various tissues is ambiguous and multidirectional. The nitric oxide system can have an inhibitory effect on the course of the lipid peroxidation process, slow down the synthesis of many potential lipid peroxidation activators and participate in the regulation of physiological processes and in the pathogenesis of obstetric pathologies. The effects of nitric oxide action depend on its concentration in cells [13—15].

The objective of the research is to study the immunobiochemical profile in the animals at risk of postpartum pathology development before farrowing and before weaning piglets.

MATERIAL AND METHODS

The studies were carried out on 12 crossbreed sows (Large White and Landrace), weighing 180—240 kg, which were retrospectively divided into two groups after farrowing. In the first group there were healthy animals, in the second — with purulent-catarrrhal endometritis and MMA (in the sick sows, 1—2 after farrowing, a depressed state, an increase in body temperature for 2—3 days, pathological discharge from the genital organs and inflammation of the mammary gland were recorded which stopped 5 days after treatment). From the sows 10 days before farrowing and before weaning piglets, blood samples were taken to study the blood morphological indicators, the LPO-AOD system and the immune status.

Erythrocytes, leukocytes, hemoglobin, hematocrit and leukoformula were determined using the ABX MICRO S60 hematology analyzer and standard cell counting techniques. The content of total immunoglobulins, circulating immune complexes (CIC), T- and B-lymphocytes, serum bactericidal activity (SBA), serum lysozyme activity (SLA), phagocytic activity of leukocytes (PAL), phagocytic number (PhN), phagocytic index (PhI) were performed in accordance with approved methods [3, 16].

The state of the antioxidant defense system and the level of endogenous intoxication in the blood were assessed using a Shimadzu UV-1700 spectrophotometer. For this, the activity of catalase and glutathione peroxidase (GPO), the concentration of vitamin A and E, malondialdehyde (MDA), stable metabolites of nitric oxide (NO_x), substances of medium weight molecules (MWM) were determined, followed by the calculation of the index of endogenous intoxication (IEI) [17].

For the statistical processing of the obtained experimental data, the Microsoft Excel package of applied programs was used. Sample mean values of signs, the distribution of which obeyed the normal law, were compared by Student's t-test; differences were considered significant at $p < 0.05$.

STUDY RESULTS

The blood test from sows 10 days before the expected farrowing did not reveal a statistically significant difference between groups of animals in terms of the content of erythrocytes, hemoglobin, hematocrit and leukocytes (Table 1).

Table 1

Blood indicators in sows

Indicators	10 days before farrowing		Before weaning piglets	
	I	II	I	II
1	2	3	4	5
Erythrocytes, 10 ¹² /L	6.5 ± 0.19	6.3 ± 0.12	6.0 ± 0.18	5.8 ± 0.08*
Hemoglobin, g/L	123.6 ± 2.98	122.4 ± 1.84	115.8 ± 2.29	109.0 ± 1.46*
Hematocrit, %	39.6 ± 0.68	38.8 ± 0.88	37.2 ± 1.17	34.6 ± 0.73*
Leukocytes, 10 ⁹ /L	12.2 ± 0.24	12.7 ± 0.24	11.5 ± 0.29	12.5 ± 0.27*
Stab neutrophils, %	1.4 ± 0.25	2.6 ± 0.20**	2.6 ± 0.51	4.1 ± 0.40*
Segmented neutrophils, %	32.8 ± 1.43	36.9 ± 1.30*	49.4 ± 1.36	45.3 ± 1.87
Eosinophils, %	8.6 ± 1.08	7.6 ± 0.75	3.6 ± 0.60	3.1 ± 0.26

Table 1 (the end)

1	2	3	4	5
Monocytes, %	2.0 ± 0.32	1.1 ± 0.14*	1.6 ± 0.40	1.9 ± 0.26
Lymphocytes, %	55.2 ± 1.77	51.8 ± 1.96	42.8 ± 0.97	45.6 ± 1.13*

* $p < 0.05$

** $p < 0.005$ relative to group I

However, in the leukoformula in the sows of the second group, compared with the first, an increase in the number of stab and segmented neutrophils by 83.7 % and 12.4 %, respectively, was noted, with a decrease in the number of monocytes by 42.9 %.

Before weaning piglets, in the sows of the second group, in comparison with the first group, the number of erythrocytes was lower by 7.1 %, hemoglobin —

by 5.0 % and hematocrit — by 6.8 %. In the blood of the animals that suffered from endometritis and MMA after farrowing, an increased content of leukocytes by 8.2 %, stab neutrophils — by 1.6 times and lymphocytes — by 6.5 % was observed.

The changes in the indicators of general nonspecific immunity in the sows of the first and second groups during the experiment are presented in Table 2.

Table 2

Indicators of general non-specific resistance of sows

Indicators	10 days before farrowing		Before weaning piglets	
	I	II	I	II
Lymphocytes, 10 ⁹ /L	6.80 ± 0.10	6.58 ± 0.08	4.92 ± 0.08	5.54 ± 0.07**
T-lymphocytes, 10 ⁹ /L	2.90 ± 0.06	1.68 ± 0.03**	1.81 ± 0.06	2.2 ± 0.07**
B-lymphocytes, 10 ⁹ /L	1.42 ± 0.06	1.81 ± 0.04**	0.79 ± 0.06	0.93 ± 0.04*
Phagocytic activity of leukocytes, %	77.2 ± 1.29	81.7 ± 1.99*	79.6 ± 1.33	75.80 ± 1.45*
Phagocytic number	4.02 ± 0.07	4.59 ± 0.06**	5.96 ± 0.09	5.25 ± 0.07**
Phagocytic index	5.28 ± 0.08	5.69 ± 0.07**	7.82 ± 0.12	6.73 ± 0.08**
Serum bactericidal activity, %	68.18 ± 0.81	66.19 ± 1.53	56.4 ± 0.58	62.5 ± 1.43**
Serum lysozyme activity, mg/L	0.70 ± 0.06	0.52 ± 0.03*	1.38 ± 0.18	1.51 ± 0.4
Total immunoglobulins, g/L	28.80 ± 0.79	26.4 ± 0.34**	34.6 ± 0.56	36.2 ± 0.68
Circulating immune complexes, g/L	0.58 ± 0.06	0.62 ± 0.03	0.62 ± 0.06	0.73 ± 0.03

* $p < 0.05$ —0.02

** $p < 0.005$ —0.001 relative to group I

Ten (10) days before farrowing, with a relatively equal level of lymphocytes in the blood of sows, in the animals of the second group, the content of T-lymphocytes was lower by 42.1 %, and the absolute number of B-lymphocytes was higher by 27.5 %. At the same time, a decrease in the concentration of

total immunoglobulins by 8.3 %, compared with the first group, indicated a violation of the transformation of B-lymphocytes into plasma cells synthesizing antibodies.

The study of the cellular link of the immune system showed that in the sows of the second group, compared

with clinically healthy animals, with a lower content of T-lymphocytes by 7.6 % and SLA — by 25.7 %, a high activity of neutrophils was noted. Thus, the phagocytic activity of leukocytes was higher by 5.8 %, phagocytic index and phagocytic number — by 7.8 % and 14.2 %, respectively.

Indicators of general non-specific resistance in the sows of the second group before weaning piglets were characterized by an increase in the number of lymphocytes by 12.6 %, T- and B-lymphocytes — by 21.5 % and 17.7 %, respectively, against the background of a lower phagocytic activity of leukocytes by 4.8 %, PhI and PhN — by 13.9 % and 11.9 %, respectively.

At the same time, in the recovered animals, the indicators of the humoral link of nonspecific resistance: serum bactericidal and lysozyme activity were higher by 10.8 % and 9.4 %, respectively, total immunoglobulins and circulating immune complexes — by 4.6 % and 17.7 %, respectively.

Thus, in the sows that fell ill with endometritis and MMA after farrowing, 10 days before the expected farrowing, the tension of the body's defense systems is observed.

At the same time, the indicators of general nonspecific resistance even after recovery differ from healthy animals, which requires further study to understand their role in the pathogenesis of postpartum pathology and their significance for prognosis.

When studying the processes of free radical oxidation and the antioxidant defense system 10 days before farrowing, it was found that in the experimental animals of the second group, the concentration of malondialdehyde was higher by 23.7 % (Table 3). A higher intensity of lipid peroxidation processes, together with an increased content of medium weight molecules (λ_{238} — by 8.3 % and λ_{254} — by 7.7 %), led to an increase in the index of endogenous intoxication by 23.0 %.

Table 3

Indicators of endogenous intoxication and antioxidant protection in sows

Indicators	10 days before farrowing		Before weaning piglets	
	I	II	I	II
MDA, $\mu\text{mol/L}$	1.18 ± 0.07	$1.46 \pm 0.05^*$	1.29 ± 0.07	1.43 ± 0.05
MWM ₂₃₈ , c. u.	0.72 ± 0.06	0.78 ± 0.04	0.58 ± 0.06	0.67 ± 0.04
MWM ₂₅₄ , c. u.	0.26 ± 0.06	0.28 ± 0.04	0.32 ± 0.06	0.36 ± 0.04
IEI, c. u.	14.80 ± 0.48	$18.20 \pm 0.45^{**}$	12.8 ± 0.42	$15.6 \pm 0.39^{**}$
NO _x , $\mu\text{mol/L}$	126.40 ± 6.11	$174.3 \pm 4.40^{**}$	52.6 ± 1.73	$70.5 \pm 1.77^{**}$
Catalase, $\text{mmol H}_2\text{O}_2/\text{L}\cdot\text{min}$	28.60 ± 0.94	$32.30 \pm 0.81^*$	24.6 ± 0.81	$28.8 \pm 0.72^{**}$
GPO, $\text{mmol GSH/L}\cdot\text{min}$	12.40 ± 0.41	$9.41 \pm 0.23^{**}$	10.8 ± 0.35	$9.62 \pm 0.24^*$
Vitamin A, $\mu\text{mol/L}$	1.14 ± 0.07	$0.89 \pm 0.04^*$	1.28 ± 0.07	$1.04 \pm 0.04^*$
Vitamin E, $\mu\text{mol/L}$	14.80 ± 0.48	$12.1 \pm 0.30^{**}$	15.8 ± 0.52	$12.9 \pm 0.32^{**}$

* $p < 0.02-0.01$

** $p < 0.005-0.001$ relative to group I

In the sows at risk of postpartum pathology development, oxidative stress is accompanied by a change in the functioning of the enzymatic and non-enzymatic link of the antioxidant system: a decrease in the activity of glutathione peroxidase by 24.1 %, the concentration of vitamin A — by 21.9 % and vitamin E — by 18.2 %. An increase in catalase activity by 12.9 % may be associated with the accumulation of primary prod-

ucts of lipid peroxidation and increased metabolism in neutrophils and macrophages, in which the content of reactive oxygen species increases, in the neutralization of which catalase is involved [18].

The concentration of nitric oxide, which relaxes the smooth muscles of the uterus, keeping the uterus at rest during gestation, is involved in the regulation of farrowing, is an important part of immunity, in

the sows of the second group, compared with the first group, was by 37.9 % higher. Due to the fact that nitric oxide is also a signaling molecule involved in oxidative stress and inflammation, the increased intensity of its production during gestation in the sows with endometritis and MMA in the postpartum period may be associated both with the implementation of its protective function against the penetration of pathogens and with the nitrosative stress development.

The study of the blood of the experimental sows before weaning piglets showed that in the second group, compared with healthy animals, the concentration of malondialdehyde was higher by 10.9 %, medium weight molecules (λ_{238} and λ_{254} — by 15.5 % and 12.5 %, respectively), IEI — by 219 %, which indicates a more active course of lipid peroxidation processes and an increase in endogenous intoxication.

At the same time, the activity of glutathione peroxidase in the blood of the sows of the second group was lower by 10.9 % and catalase, on the contrary, higher by 17.1 %, which was associated with an increased intensity of oxidative processes and accumulation of primary peroxidation products, as well as the role of catalase in the modulation of nitrosative stress by oxidation of nitrites to nitrates [19].

The content of vitamin A compared with healthy animals was less by 18.8 %, and vitamin E — by 18.4 %, which was the result of an increased consumption for maintaining redox processes in the body of sows.

The concentration of nitric oxide, which plays a significant role in the pathogenesis of various pathologies, including the progression of chronic inflammation, in the sows of the second group exceeded this indicator in the animals of the first group by 34.0 % [20].

Thus, the damaging effect of toxic products of protein and lipid metabolism, toxins of microbial origin, with insufficient detoxification and antioxidant factors of the body before farrowing, lead to a decrease in the overall resistance of sows after farrowing. At the same time, an increased consumption of the reserves of the immune and antioxidant systems in response to an antigenic and toxic load can lead to a violation of the defense mechanisms in the animal body.

CONCLUSION

One of the leading pathogenic factors in the development of postpartum inflammation in the reproductive organs of sows is a violation of the oxidative-antioxidant balance, which leads to oxidative stress. Free radical oxidation in the sows with purulent-catarrhal endometritis and MMA, compared with healthy an-

imals, takes place at a higher level with an increase in endogenous intoxication, with a weakening of the body's antioxidant potential. There is also an increase in nitric oxide production and a decrease in overall non-specific resistance.

Due to the fact that different periods of the sexual cycle are characterized by a certain state of metabolism, to restore the reproductive health of the animals with inflammatory processes in the uterus, an integrated approach is required, including the use of drugs to correct the intensity of free radical reactions, increase the antioxidant status and nonspecific resistance in the body of sows.

REFERENCES

1. *Sashnina L. Yu.* Epizootic situation with respiratory diseases of pigs on industrial type farms, etiology and clinical and experimental substantiation of the use of new means of their prevention and therapy: abstract of a thesis ... Doc. of Vet. Sciences. — M., 2013. — 54 p.
2. *Shubina T. P.* Morphology of some lymphoid organs of pigs in postnatal ontogenesis / T. P. Shubina, N. V. Chaporova // *Veterinarnaya patologiya (Veterinary pathology)*. — 2015. — No. 1 (51). — P. 64—68.
3. *Shakhov A. G.* Methodical recommendations for assessing and correcting the immune status of animals / A. G. Shakhov, Yu.N. Masyanov, M. I. Retskiy et al. — Voronezh: Istoki, 2005. — 116 p.
4. *Shakhov A. G.* Cytokine profile in sows with the risk of the postpartum pathology development during different periods of the reproductive cycle / A. G. Shakhov, L. Yu. Sashnina, Yu.Yu. Vladimirova, K. O. Akulova, G. V. Nikonenko, E. A. Andrianov // *Bulletin of Veterinary Pharmacology*. — 2023. — No. 1 (22). — P. 129—138.
5. *Popov V. S.* Etiological features of immunodeficiencies in pigs under industrial technology / V. S. Popov, N. V. Samburov, A. A. Zorikova // *Vestnik Kurskoy gosudarstvennoy akademii (Bulletin of Kursk State Academy)*. — 2015. — No. 4. — P. 63—67.
6. *Vinogradova O. P.* On the markers of the endogenous intoxication syndrome severity in case of inflammatory diseases of the pelvic organs in gynecology / O. P. Vinogradova, G. P. Gladilin, M. N. Kuznetsova et al. // *Fundamentalnye issledovaniya (Fundamental researches)*. — 2012. — No. 8 (1). — P. 60—63.
7. *Branko A.* Bacteria associated with clinical postpartum dysgalactia syndrome in farmed sows in the Republic of Macedonia / A. Branko, A. Cvetkovikj, Sl. Mrenoshki et al. // *Turk J Vet Anim Sci*. — 2016. — N240. — P. 776—781.
8. *Belskaya L. V.* Endogenous intoxication and saliva lipid peroxidation in patients with lung cancer / L. V. Belskaya, V. K. Kosenok, G. Massard // *Diagnostics (Basel)*. — 2016. — N6 (4). — P. 39.
9. *Gotardo A. T.* Intoxication by cyanide in pregnant sows: prenatal and postnatal evaluation / A. T. Gotardo,

I. M. Hueza, H. Manzano et al. // *J Toxicol.* — 2015. — N2015. — P. 407654.

10. *Vladyka A. S.* Medium molecules and the problem of endogenous intoxication in critical states of various etiologies / A. S. Vladyka, E. V. Levitskiy, L. P. Poddubnaya et al. // *Anesteziya i reanimatologiya (Anesthesia and resuscitation).* — 1987. — No. 1—2. — P. 37—42.

11. *Gutyj B.* The impact of endogenous intoxication on biochemical indicators of blood of pregnant cows. / B. Gutyj, Y. Grymak, M. Drach et al. // *Regulatory Mechanisms in Biosystems.* — 2017. — No.8. — P. 438—443.

12. *Song X.* Dynamic analysis of nitric oxide and total oxidant capacity in cow uterine secretion with subclinical endometritis / X. Song, D. Li, F. Guo-feng et al. // *Journal of Northeast Agricultural University (English Edition).* — 2015. — V. 22. — I. 1. — P. 35—39.

13. *Kuznetsova V. L.* Nitric oxide: properties, biological role, mechanisms of action / V. L. Kuznetsova, A. G. Solovyeva // *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya (Modern problems of science and education).* — 2015. — No. 4. — P. 462.

14. *Hogg N.* Nitric oxide and lipid peroxidation / N. Hogg, B. Kalyanaraman // *Biochim Biophys Acta.* — 1999. — v. 1411. — N2—3. — P. 378—384.

15. *Tschakovsky M. E.* Nitric oxide and muscle blood flow in exercise / M. E. Tschakovsky, M. J. Joyner // *Appl*

Physiol Nutr Metab. — 2008. — v. 33. — I. 1. — P. 151—160.

16. *Shakhov A. G.* Methodical recommendations for the evaluation and correction of non-specific animal resistance / A. G. Shakhov, Yu.N. Brigadirov, A. I. Anufriev et al. — Voronezh: Istoki, 2005. — 62 p.

17. *Retskiy M. I.* Methodical recommendations for the diagnosis, therapy and prevention of metabolic disorders in productive animals / M. I. Retskiy, A. G. Shakhov, V. I. Shushlebin et al. // Voronezh: Istoki, 2005. — 94 p.

18. *Isakov V. A.* Molecular genetic bases of pathogenicity of *Helicobacter pylori* / V. A. Isakov // *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii i koloproktologii (Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology and Coloproctology).* — 2002. — No. (12) 6. — P. 82—85.

19. *Silanikove N.* Lipopolysaccharide challenge of the mammary gland in cows induces nitrosative stress that impairs milk oxidative stability / N. Silanikove, A. Rauch-Cohen, F. Shapiro et al. // *Animal.* — 2012. — N6 (9). — p. 1451—1459.

20. *Postnikova L. B.* Nitrosive stress and soluble differentiation molecules during exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease / N. I. Kubysheva, M. V. Boldina, T. V. Li, I. A. Klimanov, V. V. Novikov // *Pulmonologiya (Pulmonology).* — 2012. — No. 1. — P. 35—39.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Yu. N. Brigadirov — Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate;

V. N. Kotsarev — Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate;

I. S. Perepelkina — Junior Scientific Associate;

I. A. Boldyrev — Applicant for a Degree;

L. V. Cheskidova — Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate;

G. N. Bliznetsova — Doctor of Biological Sciences, Chief Scientific Associate;

G. V. Nikonenko — Junior Scientific Associate.

The article was submitted 14.06.2023.

Научная статья

УДК 619:612.111:636.2

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2023.3.117

СОСТОЯНИЕ ЭРИТРОЦИТАРНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ КОМОРБИДНОЙ ПАТОЛОГИИ У КОРОВ

Юрий Николаевич Алехин[✉], Павел Андреевич Паршин,
Валентина Ивановна Моргунова, Евдокия Владимировна Тюрина,
Анастасия Юрьевна Лебедева

*Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии,
фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, exterapi@yandex.ru[✉]*

Аннотация. В условиях крупной молочно-товарной фермы с использованием клинических, инструментальных и лабораторных методов были проведены исследования состояния эритроцитарной системы у коров при беременности неосложненной и осложненной акушерской и экстрагенитальной патологией. Выявлено, что в течение неосложненной беременности наблюдается постоянная тенденция к увеличению внеэритроцитарной доли гемоглобина, что обусловлено повышением проницаемости мембран эритроцитов. В результате, возникает гипохромия, т. е. снижается кислородная емкость крови, что в клиническом плане соответствует преданемическому состоянию. Для компенсации риска прогрессирования гипоксии активизируется эритропоэз, что позволяет исключить при физиологической беременности развитие полноценного симптомокомплекса анемии. Однако при длительной перегрузке костного мозга могут возникнуть сбои его работы и процессов эритропоэза. Вначале это проявится расширением вариабельности размера эритроцитов с увеличением доли мелких клеток, но затем возникает риск развития гипохромной микроцитарной анемии. У больных анемией и токсической дистрофии печени изначально имеется анемия. При этом, обе патологии имеют собственные взаимодополняющие механизмы развития анемии, т. е. имеет место синтропия. При наличии гепатоза и анемии у беременных, на фоне выявленной у них тенденции к гипохромии, наблюдается усиление выраженности ранее имеющейся анемии. Развитие гестоза не оказывает существенное влияние на эритроцитарную систему, но при нем отмечено более значительное повышение проницаемости мембран эритроцитов и дефицита в них гемоглобина. В результате, у большинства животных анемия не возникает, но возрастает риск ее развития при наличии предрасполагающих факторов. Поэтому, при сочетании у беременных гепатоза, анемии и гестоза характер гематологических изменений определяют экстрагенитальные патологии. Однако, показано, что при данной коморбидной патологии наблюдается развитие более тяжелой формы анемии, т. е. имеет место прогрессирующий характер интегрального патогенеза. В данной коморбидной структуре сочетание болезни печени и крови является фоновой, а гестоз — осложняющей патологией.

Ключевые слова: коровы, эритроцитарная система, коморбидность, анемия, токсическая дистрофия печени, гестоз, мастит

Здоровье маточного поголовья является основным лимитирующим фактором развития мясного и молочного скотоводства. В структуре заболеваемости коров преобладает патология органов воспроизводства, актуальность которой наиболее высокая у беременных и в новотельный период [1, 2]. Репродуктивные нарушения, в частности, акушерская патология, такие как бесплодие, невынашивание беременности, фетоплацентарная недостаточность и преэклампсия являются предметом многих исследований в области медицинских и ветеринар-

ных наук [3—5]. В скотоводстве эти патологии входят в число основных причин возникновения гинекологических и перинатальных заболеваний [6]. Преэклампсия (гестоз, поздний токсикоз) представляет собой патологию беременности, характеризующуюся артериальной гипертензией, протеинурией, отеками и нарушением функций многих систем организма. Несмотря на сравнительно большое количество публикаций, посвященных данной проблеме, многие вопросы ее возникновения и патогенеза не изучены [7]. Первые адаптационные ре-

акции на беременность, происходят со стороны микроциркуляции, поэтому можно предположить, что в развитии преэклампсии важная роль принадлежит реологическим нарушениям [8, 9]. При этом, особый интерес представляет состояние эритроцитов, которые являются ведущим фактором, определяющим микроциркуляцию, а также обеспечивают адекватную тканевую перфузию и газообмен на уровне микрососудов [10, 11]. Однако, с клинической точки зрения, важно знать не только роль дисфункций эритроцитов в развитии гестоза, но и особенности его течения на фоне ранее возникших болезней крови. Поэтому, целью нашей работы было изучение состояния эритроцитарной системы при беременности неосложненной и осложненной акушерской и экстрагенитальной патологией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В условиях молочно-товарной фермы, расположенной в Воронежской области, в период с 1 июня по 25 июля 2022 года проводились исследования, объектом которого были коровы в возрасте 3—6 лет красно-пестрой (Воронежский тип) и голштинской черно-пестрой (венгерская селекция) пород. Животные содержались беспривязно в групповых секциях с индивидуальными полубоксами для отдыха, а для прогулки имели свободный выход на выгульную площадку, оборудованную навесом. Состав и питательность их рациона был составлен с учетом физиологического состояния и соответствовал существующим в настоящее время рекомендациям [12].

На основании результатов диспансеризации были сформированы восемь групп животных: № 1 (положительный контроль, $n = 25$) — клинически здоровые небеременные на 115—125-й день лактации, № 2 ($n = 25$) — небеременные (115—125-й день лактации) больные гепатозом и анемией, № 3 ($n = 25$) — клинически здоровые со сроком беременности 4,0—4,5 месяца на 215—225-й день лактации, № 4 ($n = 25$) — больные гепатозом и анемией со сроком беременности 4,0—4,5 месяца на 215—225-й день лактации, № 5 ($n = 25$) — клинически здоровые со сроком беременности 7,5—8,0 месяцев, № 6 (22) — беременные со сроком 7,5—8,0 месяцев и наличием гестоза средней тяжести течения, № 7 ($n = 23$) — беременные со сроком 7,5—8,0 месяцев и наличием сочетания гепатоз, анемия и гестоза средней тяжести течения и № 8 ($n = 20$) — больные гепатозом и анемией со сроком беременности 7,5—8,0 месяца.

Дифференциацию животных, по наличию беременности и ее сроку, проводили на основании результатов ректального обследования, а градацию — по состоянию здоровья — по данным клинических, инструментальных и лабораторных исследований. Все животные находились под постоянным наблюдением в течение двух месяцев от исходного обследования.

Однако в указанные выше сроки лактации или беременности животные они подвергались более детальному обследованию. При этом, клинико-инструментальное обследование проводили общепринятыми методами, а пробы крови для лабораторного анализа отбирали из яремной вены в вакуумные пробирки ЕЛАМЕД с активатором свертывания (диоксид кремния) или с антикоагулянтом (K_3 ЭДТА), соответственно, для получения образца сыворотки или цельной крови (АО «Елатомский приборный завод», Россия). При исследовании крови использовали коммерческие наборы реактивов «ДиаВет Тест» (АО «Диакон-ДС», Россия). Клинический диагноз ставили с учетом специфических клинических симптомов и результатов исследования крови [12, 13].

При этом, токсическую дистрофию печени (гепатоз) констатировали при выявлении высокого уровня холестерина ($\geq 5,5$ мм/л), билирубина ($\geq 18,0$ мкм/л), активности аланинаминотрансферазы ($\geq 40,0$ Е/л), аспаратаминотрансферазы ($\geq 100,0$ Е/л), щелочной фосфатазы ($\geq 200,0$ Е/л), гаммаглутаминтрансферазы ($\geq 25,0$ Е/л) и сорбитолдегидрогеназы ($\geq 1,5$ Е/л). На наличие анемии указывало снижение величин гематокрита ($\leq 25,0$), гемоглобина ($\leq 85,0$ г/л) и его содержания в эритроцитах ($\leq 16,0$ пг). Основанием для констатации преэклампсии (гестоза, позднего токсикоза беременных) являлось сочетание отеков, повышения уровня белка в моче ($\geq 0,3$ г/л), диастолического ($\geq 55,0$ мм.рт.ст.) и систолического ($\geq 135,0$ мм.рт.ст.) артериального давления.

Оценку эритроцитарной системы проводили на основании показателей количества эритроцитов, уровня гематокрита, общего гемоглобина и его внеэритроцитарной фракции (ВЭГ), среднего содержания (МСН) и концентрации (МСНС) гемоглобина в эритроците, а также среднего объема эритроцитов (MCV) и степени вариации данной величины (RDW).

При статистическом анализе полученных величин рассчитывали среднюю арифметическую и ее ошибку ($M \pm m$), а достоверность межгруппового различия (p) оценивали по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Обследование показало, что у здоровых небеременных и беременных коров отсутствовали признаки какой либо патологии, они имели хороший аппетит и были активны. У больных гепатозом и/или гепатозом и анемией сохранялся аппетит, но наблюдалось уменьшение двигательной активности и увеличение времени, когда они лежат. Результаты наблюдения за животными показали, что в начале опыта у всех животных отсутствовали симптомы патологии молочной железы. Однако в период

наблюдения среди исходно здоровых не беременных и второго триместра гестации диагностировали мастит клинический у 4,0 и 4,0 %, а субклинический — у 4,0 и 8,0 % животных. В то время, как при исходном наличии коморбидной патологии заболеваемость холостых составила 12,0 и 8,0 %, а беременных — у 12,0 и 20,0 %.

Результаты анализа крови представлены в таблицах 1 и 2, из которых видно, что при физиологической беременности происходят изменения гематологического профиля, выраженность которого зависит от гестационного срока.

Таблица 1

Гематологические показатели крови коров небеременных и беременных со сроком 4,0—4,5 месяцев

Показатели / Группа животных	Небеременные коровы		Коровы со сроком беременности 4,0—4,5 месяцев	
	Здоровые	Гепатоз, анемия	Здоровые	Гепатоз, анемия
Эритроциты, *10 ¹² /л	6,15 ± 0,135	5,10 ± 0,117	6,40 ± 0,207	5,30 ± 0,125
Гемоглобин, г/л	114,0 ± 4,20	85,0 ± 1,70	110,5 ± 2,11	85,0 ± 1,19
Гематокрит, %	32,6 ± 1,01	25,00 ± 0,51	31,9 ± 0,870	24,7 ± 0,70
ВЭГ, г/л	0,27 ± 0,005	0,52 ± 0,013	0,35 ± 0,012**	0,58 ± 0,021
МСН, пг	18,54 ± 0,413	16,60 ± 0,210	17,11 ± 0,388	16,04 ± 0,240
МСНС, г/л	349,7 ± 5,92	340,0 ± 4,27	346,4 ± 3,74	344,1 ± 4,00
MCV, μm ³	53,01 ± 0,710	49,02 ± 0,617*	49,60 ± 0,713	46,6 ± 0,508
RDW, %	13,20 ± 0,441	18,7 ± 0,288	14,3 ± 0,260	19,8 ± 0,155

* $P < 0,05$

** $P < 0,01$

*** $P < 0,001$ — в сравнении со здоровыми

В сравнении с показателями небеременных, отмечено увеличение уровня эритроцитов на 4,9 % у беременных со сроком 4,0—4, 5 месяцев и на 6,0 % в третьем триместре, RDW на 8,3 и 12,1 %. Помимо этого, наблюдается некоторое уменьшение гемоглобина, МСН, МСНС и MCV. При этом, несмотря на умеренную выраженность происходящих изменений, формируется достоверная тенденция развития гипохромии со снижением общего гемоглобина, его содержания и концентрации в эритроцитах. Одной из причин анемии является увеличение проницаемости мембран эритроцитов и выход гемоглобина из клеток, на что указывает увеличение уровня ВЭГ во втором и третьем триместре, соответственно, на 29,6 и 40,7 %.

Выявленное повышение количества эритроцитов и вариабельности их размеров указывает на

адаптационно-компенсаторную активизацию костного мозга. [14], но длительная функциональная нагрузка на него формирует риск сбоя процессов эритропоэза, на что указывает тенденция к уменьшению объема эритроцитов (MCV). Многие авторы отмечают сравнительно широкое распространение анемии среди беременных [15, 16]. Выявленные нами изменения гематологического профиля не дают основания для констатации наличия у них анемии [17, 18]. Однако, показано наличие риска ее развития в виде причинно-следственного процесса, инициируемого повышением проницаемости мембран эритроцитов со снижением концентрации и содержания в них гемоглобина. Для компенсации, возникающей при этом гипохромии эритроцитов, активизируется работа костного мозга, но длительная функциональная нагрузка снижают его

компенсаторный потенциал и, возможно, в сочетании с дефицитом структурных метаболитов (железо, фолаты и др.) [19] снижается качество эритропоэза с тенденцией к анизоцитозу с увеличением доли эритроцитов меньшего размера.

Таким образом, при беременности происходят изменения эритроцитарной системы, из числа которых наиболее выражены — это тенденция к гипохромии и повышению уровня внеэритроцитарного гемоглобина, которые формируют риск возникновения анемии, но для ее развития необходимы дополнительные факторы, такие как усиление степени деструкции мембран эритроцитов и вторичных нарушений эритропоэза (токсическая дисфункция, дефицит потребления и др.) [19].

У коров из группы 2 диагностировали наличие токсической дистрофии печени (гепатоз) и анемии. При этом, сложно определить очередность развития указанных заболеваний, т. к., при анемии часты случаи нарушения гепатобилиарной системы [20, 21], а гематологические сдвиги наблюдаются при многих заболеваниях печени [22, 23]. Поэтому, мы констатируем наличие сочетания двух самостоятельных этих болезней, т. е. имеет место коморбидная патология. У больных небеременных и на втором триместре беременности отмечены аналогичные по направлению и степени выраженности изменения изучаемых показателей. Так, у них оказались ниже, чем у здоровых, уровень эритроцитов соответственно на 17,1 и 17,2 %, гемоглобина на 25,4 и 23,1 %, гематокрита на 23,3 и 22,6 %, МСН

на 10,5 и 6,3 % и MCV на 7,5 и 6,0 %, но выше величины ВЭГ на 92,6 и 65,7 % и RDW на 41,6 и 38,5 %.

Таким образом, у небеременных и на втором триместре беременности, развитие коморбидной патологии, включающей в себя гепатоз и анемию, имеет место усиление деструкции мембран эритроцитов и анемия с выраженными гипохромией и эритроцитопенией. Сочетание уменьшения количества эритроцитов и содержания в них гемоглобина характерно для анемии при хронических заболеваниях, в патогенезе которой наблюдается сочетание дефицита железа (реже фолиевой кислоты), нарушения синтеза эритропоэтина и гиперпродукции факторов, угнетающих эритропоэз. [24]. Помимо этого, у беременных на фоне физиологической тенденции к уменьшению объема эритроцитов и расширения вариабельности их размеров, отмечено усиление выраженности анизоцитоза и микроцитоза.

У больных (гепатоз, анемия) коров со сроком беременности 7,5—8,0 месяцев идентичный гематологический профиль, указывающий на наличие гипохромной микроцитарной анемии с выраженными нарушениями функций мембран эритроцитов и вариабельности их размера (табл 2). При развитии на этом сроке беременности гестоза (средняя степень тяжести) не происходят существенные изменения эритроцитарной системы. Исключение составляет увеличение, в сравнении со здоровыми, уровня ВЭГ (на 39,5 %) и RDW (на 29,4 %), но уменьшение МСН (на 3,9 %) и MCV (6,6 %).

Таблица 2

Гематологические показатели крови коров со сроком беременности 7,5—8,0 месяцев

Показатели / Группа животных	Здоровые	Гестоз	Гестоз, гепатоз, анемия	Гепатоз, анемия
Эритроциты, *10 ¹² /л	6,52 ± 0,206	6,56 ± 0,284	5,25 ± 0,163	5,57 ± 0,100
Гемоглобин, г/л	108,5 ± 2,11	105,0 ± 2,21	81,0 ± 1,30	85,3 ± 1,35
Гематокрит, %	31,50 ± 0,414	29,61 ± 0,381	22,5 ± 0,260	24,40 ± 0,371
ВЭГ, г/л	0,38 ± 0,010	0,53 ± 0,008	0,78 ± 0,014	0,65 ± 0,015
МСН, пг	16,65 ± 0,370	16,00 ± 0,368	15,42 ± 0,315	15,30 ± 0,325
МСНС, г/л	344,4 ± 5,31	354,6 ± 4,62	360,0 ± 5,18	349,6 ± 5,47
MCV, μm ³	48,3 ± 0,75	45,1 ± 0,66	42,8 ± 0,61	43,8 ± 1,14
RDW, %	14,80 ± 0,215	19,16 ± 0,308	19,9 ± 0,213	19,5 ± 0,200

* $P < 0,05$

** $P < 0,01$

*** $P < 0,001$ — в сравнении со здоровыми

Наиболее выраженные гематологические нарушения выявлены при сочетании гестоза, гепатоза и анемии. У этих больных количество эритроцитов оказалось ниже в сравнении со здоровыми на 19,5 %, с больными гепатозом и анемией на 5,7 % и гестозом на 20,0 %, уровень гемоглобина, соответственно, на 25,3, 5,0 и 22,8 %, гематокрита на 28,6, 7,8 и 24,0 %, MCV на 11,4, 2,3 и 5,1 %. Но выше были величины ВЭГ (в 2,1 раза, на 20,0 и 47,2 %) и RDW (на 34,4, 2,1 и 3,9 %).

Таким образом, при неосложненном гестозе средней тяжести не происходит клинически значимых изменений гематологического статуса животных, но выявленное повышение проницаемости мембран эритроцитов и выраженности анизоцитоза, в сочетании с физиологической предрасположенностью у беременных, повышает риск развития анемии. При коморбидном варианте гестоза выявлены признаки гипохромной микроцитарной анемии, ведущими механизмами патогенеза которой являются нарушения работы костного мозга (анизоцитоз, микроцитоз), функций мембран и эритроцитов (гипохромия, ВЭГ). Однако, отмеченные изменения преимущественно обусловлены не гестозом, а сопутствующими патологиями (анемия, патология печени), исключение составляет дисфункция мембран, степень выраженности которых возрастает в присутствии гестоза. При этом, высока вероятность, что анемия может быть причиной или повышает вероятность возникновения гестоза [25]. Данное предположение требует проведения соответствующих исследований, т. к. при его подтверждении у животных формируется новая тактика профилактики токсикозов беременных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты гематологических исследований показали увеличение внеэритроцитарной доли гемоглобина у коров при неосложненной беременности, что обусловлено повышением проницаемости мембран эритроцитов и является причиной их гипохромии. В результате возникает гипохромия, т. е. снижается кислородная емкость крови, что в клиническом плане соответствует преданемическому состоянию. Для компенсации риска прогрессирования гипоксии активизируется эритропоэз, что позволяет исключить при физиологической беременности развитие полноценного симптомокомплекса анемии. Однако, при длительной перегрузке костного мозга, могут возникнуть сбои его работы и процессов эритропоэза. Вначале это проявится расширением вариабельности размера эри-

троцитов с увеличением доли мелких клеток, но затем возникает риск развития гипохромной микроцитарной анемии. У больных анемией и токсической дистрофии печени изначально имеется анемия. При этом, обе патологии имеют собственные взаимодополняющие механизмы развития анемии, т. е. имеет место синтропия. При наличии гепатоза и анемии у беременных, на фоне выявленной у них тенденции к гипохромии, наблюдается усиление выраженности ранее имеющейся анемии. Развитие гестоза не оказывает существенное влияние на эритроцитарную систему, но при нем отмечено более значительное повышение проницаемости мембран эритроцитов и дефицита в них гемоглобина. В результате, у большинства животных анемия не возникает, но возрастает риск ее развития при наличии предрасполагающих факторов. Поэтому, при сочетании у беременных гепатоза, анемии и гестоза характер гематологических изменений определяют экстрагенитальные патологии. Однако, при данной коморбидной патологии наблюдается развитие более тяжелой формы анемии, т. е. имеет место прогрессирующий характер интегрального патогенеза. В данной коморбидной структуре сочетание болезни печени и крови является фоновой, а гестоз — осложняющей патологией. Представленные результаты показали, что при беременности у здоровых животных нет анемии. Однако, имеются физиологически обусловленные гематологические изменения, повышающие степень риска ее возникновения и усиливающие уровень выраженности анемии, возникшей при наличии у коров экстрагенитальных болезней. Поэтому, для профилактики анемии у беременных, необходимо выявление анемии у холостых животных или на ранних сроках их беременности. Во время беременности контролировать уровень выраженности предрасполагающих факторов — содержание внеэритроцитарного гемоглобина и его уровня в эритроцитах. При увеличении указанных скрининговых показателей следует проводить мероприятия по нормализации мембранных структур организма. Например, необходимо назначение энтеросорбентов, антигипоксантов, антиоксидантов и других фармакологических средств, снижающих уровень эндогенных и/или экзогенных токсинов, восстанавливающих целостность и функциональную активность биомембран.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Баканова К. А. Распространение патологий интранатального и пуэрперального периода у импортных

- нетелей и первотелок. / Баканова К. А., Кочарян В. Д., Авдеенко В. С., Кочарян О. К. // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. — 2022, (25—1). С. 69—76.
2. Хуранов А. М. Некоторые причины развития гинекологических заболеваний у коров в ранний послеродовый период. / Хуранов А. М., Шамарина А. В., Карданова И. А., Шамарина А. О. // Известия Кабардино-Балкарского государственного аграрного университета им. В. М. Кокова. — 2019, 4 (26). — С. 24—28.
3. Никитин Г. С. Оценка измерения концентрации прогестерона для диагностики стельности и эмбриональной смертности у молочных коров / Г. С. Никитин, К. В. Племяшов, А. А. Никитина, П. С. Анипченко, Н. Б. Баженова // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2019, 1 (6). — С. 122—128.
4. Надеев А. П., Карпович Г. С. Экстрагенитальные заболевания, коморбидные состояния и полиморбидность при материнской смерти. // Архив патологии. — 2019; 81(4). — С. 11—16.
5. Vannuccini S, Clifton VL, Fraser IS et al. Infertility and reproductive disorders: impact of hormonal and inflammatory mechanisms on pregnancy outcome. // Hum Reprod Update. — 2016, 22 (1). — pp. 104—115.
6. Иванюк В. П., Бобкова Г. Н. Этиопатогенез послеродовых эндометритов у коров. // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. — 2022, 2 (94). — С. 191—195.
7. Магомедова Ш. М., Мурашко, А. В. Варианты экспериментального моделирования плацентарной недостаточности и преэклампсии. Известия Дагестанского государственного педагогического университета. Естественные и точные науки. — 2012, 1. — С. 66—71.
8. Скориков В. Н. Некоторые показатели системы пол-аоз у коров с физиологическим и осложненным течением беременности и послеродового периода / Скориков В. Н., Михалев В. И., Ермолова Т. Г. // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2021, 4 (17). — С. 54—64.
9. Перерядкина С. П. Ангиогенез плаценты крупного рогатого скота при гестозе беременных / С. П. Перерядкина [и др.] // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. — 2016. — № 2 (42). — С. 170—176.
10. Rogers S., Doctor A. Red Blood Cell Dysfunction in Critical Illness // Crit Care Clin, 2020. Vol. 36 (2). P. 267—292.
11. Роненсон А. М., Шифман Е. М., Куликов А. В. Волевические и гемодинамические изменения у беременных, рожениц и родильниц // Архив акушерства и гинекологии им. ВФ Снегирева, 2018. Т. 5 (1). С. 4—8.
12. Методические рекомендации по диагностике, профилактике и терапии гепатопатий у крупного рогатого скота / Ю. Н. Алехин, С. В. Шабунин., М. И. Рецкий, Г. Н. Близначева, И. Р. Сидельникова, Д. Б. Чусов, И. А. Никулин, Б. В. Уша, И. А. Шкуратова. — Воронеж, 2009. — 88 с.
13. Методические рекомендации по диагностике и терапии гестоза у молочных коров и свиноматок / А. Г. Нежданов, С. В. Шабунин, В. Д. Мисайлов, В. Н. Коцарев, Ю. Н. Алехин, М. И. Рецкий, В. И. Михалев, С. М. Сулейманов, Г. Н. Близначева, В. А. Сафонов, Т. П. Брехов, Н. А. Горохов, Е. В. Шишкина, Д. А. Ерин, С. В. Чупрын, Л. В. Растриженкова, В. Ю. Боев. — Воронеж, 2009. — 32 с.
14. Шамратова А. Р. Возможности гематологических анализаторов в оценке физиологических и патологических состояний организма (обзор). / Шамратова А. Р., Шамратова В. Г., Каюмова А. Ф., Зиякаева К. Р. // Журнал медико-биологических исследований. — 2021, 9 (1). — С. 89—101.
15. Сенчук И. В. Изучение влияния препаратов олиговит и интровит на эритропоэз и показатели метаболизма у нетелей. // Известия сельскохозяйственной науки Тавриды. — 2016, 7 (170). — С. 91—95.
16. Чуланова Ю. С. Предложение плаценты: факторы риска, материнские и перинатальные исходы. / Чуланова Ю. С., Сундюкова Е. Г., Сашенков С. Л., Чулков В. С., Ушакова К. А., Томилова А. Г., Филиппова Н. А., Тарасова Л. Б., Яковлева Ю. А. // Уральский медицинский журнал. — 2023, 22 (1). — С. 4—13.
17. Katsogiannou E. Diagnostic approach of anemia in ruminants. / Katsogiannou E., Athanasiou L., Christodouloupoulos G., Polizopoulou Z. // Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society. — 2018, 69 (3). — pp. 1033—1046.
18. Методическое пособие по диагностике и профилактике нарушений антенатального и интранатального происхождения у телят / ГНУ ВНИВИПФиТ. — Воронеж: Истоки, 2013. — 92 с.
19. Ахмедова Х. Ю. Сравнительный анализ состояния эритропоэза при анемии, наблюдаемой при хронических заболеваниях. // Экономика и социум. — 2021, 4—1 (83). — С. 666—669.
20. Шапошников И. Т. Метаболический профиль сухостойных коров при различном функциональном состоянии печени / И. Т. Шапошников, В. Н., Коцарев, Ю. Н. Бригадиров, Н. Е. Папин // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2018, 1 (2). — С. 94—99.
21. Гельцер Б. И., Жилкова, Н. Н. Изменения печеночного кровообращения у больных железодефицитной анемией. // Дальневосточный медицинский журнал. — 2006 (2). — С. 26—28.
22. Mori T. and others. Outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adult patients with hepatitis-associated aplastic anemia // Int J Hematol. — 2019, 109 (6). — pp. 711—717.
23. Lorenz R., Endres S. Clinical manifestation, diagnosis, and treatment of acute hepatitis C in adults. 2017 Retrieved from <http://www.uptodate.com>.
24. Сахин В. Т. Анемия хронических заболеваний: особенности патогенеза и возможности терапевтиче-

ской коррекции (обзор литературы и результаты собственных исследований). / Сахин В. Т., Маджанова Е. Р., Крюков Е. В., Казаков С. П., Рукавицын О. А. // Онкогематология. — 2018, 13 (1). — С. 45—53.

25. Вавина О. В. Железодефицитная анемия у беременных и ее коррекция. / Вавина О. В., Пучко Т. К., Умаралиева М. А. // Медицинский совет. — 2028, 13. — С. 73—76.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Ю. Н. Алехин — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник;

П. А. Паршин — доктор ветеринарных наук, профессор;

В. И. Моргунова — кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник;

Е. В. Тюрина — младший научный сотрудник;

А. Ю. Лебедева — младший научный сотрудник.

Статья поступила в редакцию 29.05.2023 г.

Original article

UDC 619: 612.111:636.2

STATE OF THE ERYTHROCYTE SYSTEM IN CASE OF COMORBID PATHOLOGY IN COWS

Yuriy Nikolaevich Alekhin✉, Pavel Andreevich Parshin, Valentina Ivanovna Morgunova, Evdokiya Vladimirovna Tyurina, Anastasiya Yuryevna Lebedeva

All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia, exterapi@yandex.ru✉

Abstract. In the conditions of a large dairy farm, using clinical, instrumental and laboratory methods, studies of the state of the erythrocyte system during gestation in cows with uncomplicated and complicated obstetric and extragenital pathology were carried out. It has been revealed that during an uncomplicated gestation there is a constant tendency to increase the extra-erythrocyte fraction of hemoglobin, which is due to an increase in the permeability of erythrocyte membranes. As a result, hypochromia occurs, i. e. the oxygen capacity of the blood decreases, which in clinical terms corresponds to a pre-anemic state. To compensate for the risk of hypoxia progression, erythropoiesis is activated, which makes it possible to exclude the development of a full-fledged anemia symptom complex during physiological gestation. However, with prolonged overload of the bone marrow, malfunctions of its work and erythropoiesis processes may occur. Initially, this will manifest as an increase in the variability in the size of erythrocytes with an increase in the proportion of small cells, but then there is a risk of hypochromic microcytic anemia development. The animals with anemia and toxic liver dystrophy initially have anemia. At the same time, both pathologies have their own complementary mechanisms for the development of anemia, i. e. there is syntropy. In the presence of hepatosis and anemia in pregnant animals, against the background of a tendency to hypochromia revealed in them, there is an increase in the severity of previously existing anemia. The development of gestosis does not have a significant effect on the erythrocyte system, but in case of it a more significant increase in the permeability of erythrocyte membranes and a deficiency of hemoglobin has been noted. As a result, in most animals, anemia does not develop, but the risk of its development increases in the presence of predisposing factors. Therefore, when combined with hepatosis, anemia and gestosis in pregnant animals, the nature of hematological changes is determined by extragenital pathologies. However, it has been shown that in case of this comorbid pathology, the development of a more severe form of anemia is observed, i. e. there is a progressive nature of integral pathogenesis. In this comorbid structure, the combination of liver and blood diseases is the background, and gestosis is a complicating pathology.

Keywords: cows, erythrocyte system, comorbidity, anemia, toxic liver dystrophy, gestosis, mastitis

The health of the breeding stock is the main limiting factor in the development of beef and dairy cattle breeding. In the structure of morbidity in cows, pathology of the reproductive organs prevails, the relevance of which is the highest in pregnant animals and in the fresh-calf period [1, 2]. Reproductive disorders, in particular, obstetric pathology, such as infertility, miscarriage, fetoplacental insufficiency and gestosis are the subject of many studies in the field of medical and veterinary sciences [3—5]. In cattle breeding, these pathologies are among the main causes of gynecological and perinatal diseases [6]. Preeclampsia (gestosis, late toxicosis) is a pathology of gestation characterized by arterial hypertension, proteinuria, edema and dysfunction of many body systems. Despite the relative-

ly large number of publications devoted to this problem, many issues of its occurrence and pathogenesis have not been studied [7]. The first adaptive reactions to gestation occur from the microcirculation, so it can be assumed that rheological disorders play an important role in the development of preeclampsia [8, 9]. At the same time, the state of erythrocytes, which are the leading factor determining microcirculation, and also provide adequate tissue perfusion and gas exchange at the level of microvessels, is of particular interest [10, 11]. However, from a clinical point of view, it is important to know not only the role of erythrocyte dysfunctions in the development of gestosis, but also the features of its course against the background of previously occurring blood diseases. Therefore, the objec-

tive of our work was to study the state of the erythrocyte system during gestation with uncomplicated and complicated obstetric and extragenital pathology.

MATERIAL AND METHODS

In the conditions of a dairy farm located in Voronezh region, from June 1 to July 25, 2022, the studies were carried out, the object of which were cows at the age of 3—6 years, Red-Motley (Voronezh type) and Holstein Black-Motley (Hungarian selection) breeds. The animals were kept loose in group sections with individual semi-boxes for rest, and for walking they had free access to a walking area equipped with a canopy. The composition and nutritional value of their diet was compiled taking into account the physiological state and corresponded to the currently existing recommendations [12].

Based on the results of medical examination, eight groups of animals were formed: No. 1 (positive control, $n = 25$) — clinically healthy non-pregnant on the days 115—125 of lactation, No. 2 ($n = 25$) — non-pregnant (days 115—125 of lactation) animals with hepatosis and anemia, No. 3 ($n = 25$) — clinically healthy with a gestational age of 4.0—4.5 months on days 215—225 of lactation, No. 4 ($n = 25$) — animals with hepatosis and anemia with a gestational age of 4.0—4.5 months on days 215—225 of lactation, No. 5 ($n = 25$) — clinically healthy with a gestational age of 7.5—8.0 months, No. 6 (22) — pregnant with a gestational age of 7.5—8.0 months and the presence of preeclampsia of moderate severity, No. 7 ($n = 23$) — pregnant animals with a gestational age of 7.5—8.0 months and the presence of a combination of hepatosis, anemia and gestosis of moderate severity, and No. 8 ($n = 20$) — animals with hepatosis and anemia with a gestational age of 7.5—8.0 months.

Differentiation of animals, according to the presence of gestation and its duration, was carried out on the basis of the results of rectal examination, and gradation by health reasons — according to clinical, instrumental and laboratory studies. All animals were under constant observation for two months from the initial examination. However, at the above periods of lactation or gestation, the animals were subjected to a more detailed examination. At the same time, clinical and instrumental examination was carried out by conventional methods, and blood samples for laboratory analysis were taken from the jugular vein into ELAMED vacuum tubes with a coagulation activator (silicon dioxide) or with an anticoagulant (C_3EDTA), respectively, to obtain a sample of serum or whole blood (JSC “Elatomskiy pribornyy zavod”, Russia).

In blood tests, commercial reagent kits “DiaVet Test” (JSC “Diakon-DS”, Russia) were used. Clinical diagnosis was made taking into account specific clinical symptoms and blood test results [12, 13]. At the same time, toxic liver dystrophy (hepatosis) was diagnosed when high levels of cholesterol (≥ 5.5 mM/L), bilirubin (≥ 18.0 μ M/L), alanine aminotransferase activity (≥ 40.0 U/L), aspartate aminotransferase (≥ 100.0 U/L), alkaline phosphatase (≥ 200.0 U/L), gammaglutamine transferase (≥ 25.0 U/L) and sorbitol dehydrogenase (≥ 1.5 U/L). The presence of anemia was indicated by a decrease in hematocrit (≤ 25.0), hemoglobin (≤ 85.0 g/L) and its content in erythrocytes (≤ 16.0 pg). The basis for ascertaining preeclampsia (gestosis, late toxicosis of pregnant animals) was a combination of edema, increased levels of protein in the urine (≥ 0.3 g/l), diastolic (≥ 55.0 mmHg) and systolic (≥ 135.0 mmHg) blood pressure. Evaluation of the erythrocyte system was carried out on the basis of indicators of the number of erythrocytes, hematocrit, total hemoglobin and its extra-erythrocyte fraction (EEF), the mean cell hemoglobin (MCH) and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), as well as the mean corpuscular volume (MCV) and the degree of red cell distribution width (RDW).

In the course of statistical analysis of the obtained values, the arithmetic mean and its error ($M \pm m$) were calculated, and the significance of the intergroup difference (p) was assessed by Student’s t -test.

RESULTS AND DISCUSSION

The survey showed that healthy non-pregnant and pregnant cows showed no signs of any pathology, they had a good appetite and were active. The animals with hepatosis and/or hepatosis and anemia retained their appetite, but there was a decrease in motor activity and an increase in the time they lay down. The results of observation of animals showed that at the beginning of the experiment, all animals had no symptoms of mammary gland pathology. However, during the observation period, among initially healthy non-pregnant animals and the second trimester of gestation, clinical mastitis was diagnosed in 4.0 and 4.0 %, and subclinical — in 4.0 and 8.0 % of animals. While in case of the initial presence of comorbid pathology, the incidence of non-pregnant animals was 12.0 and 8.0 %, and the incidence of pregnant animals — in 12.0 and 20.0 %.

The results of the blood test are presented in Tables 1 and 2, from which it can be seen that during physiological gestation, changes in the hematological profile occur, the severity of which depends on the gestational age.

Table 1

Blood hematological indicators of non-pregnant and pregnant cows with a period of 4.0—4.5 months

Indicators / Group of animals	Non-pregnant cows		Cows with a gestational age of 4.0— 4.5 months	
	Healthy	Hepatositis, anemia	Healthy	Hepatositis, anemia
Erythrocytes, $\cdot 10^{12}/L$	6.15 \pm 0.135	5.10 \pm 0.117	6.40 \pm 0.207	5.30 \pm 0.125
Hemoglobin, g/L	114.0 \pm 4.20	85.0 \pm 1.70	110.5 \pm 2.11	85.0 \pm 1.19
Hematocrit, %	32.6 \pm 1.01	25.00 \pm 0.51	31.9 \pm 0.870	24.7 \pm 0.70
EEF, g/L	0.27 \pm 0.005	0.52 \pm 0.013	0.35 \pm 0.012**	0.58 \pm 0.021
MCH, pg	18.54 \pm 0.413	16.60 \pm 0.210	17.11 \pm 0.388	16.04 \pm 0.240
MCHC, g/L	349.7 \pm 5.92	340.0 \pm 4.27	346.4 \pm 3.74	344.1 \pm 4.00
MCV, μm^3	53.01 \pm 0.710	49.02 \pm 0.617*	49.60 \pm 0.713	46.6 \pm 0.508
RDW, %	13.20 \pm 0.441	18.7 \pm 0.288	14.3 \pm 0.260	19.8 \pm 0.155

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ — compared to healthy ones

In comparison with non-pregnant animals, there was an increase in the level of erythrocytes by 4.9 % in pregnant animals with a gestational age of 4.0—4.5 months and by 6.0 % in the third trimester, RDW — by 8.3 and 12.1 %. In addition, there is some decrease in hemoglobin, MCH, MCHC and MCV. At the same time, despite the moderate severity of the ongoing changes, a significant trend in the development of hypochromia is formed with a decrease in total hemoglobin, its content and concentration in erythrocytes. One of the causes of anemia is an increase in the permeability of erythrocyte membranes and the release of hemoglobin from cells, as indicated by an increase in the level of EEF by 29.6 and 40.7 % in the second and third trimester, respectively.

The revealed increase in the number of erythrocytes and the variability of their sizes indicates an adaptive-compensatory activation of the bone marrow. [14], but a long-term functional load on it creates a risk of failure of erythropoiesis processes, as indicated by a tendency to a decrease in the volume of erythrocytes (MCV). Many authors note a relatively wide spread of anemia among pregnant individuals [15, 16]. The changes in the hematological profile that we have identified do not give grounds for ascertaining the presence of anemia in them [17, 18]. However, it has been shown that there is a risk of its development in the form of a causal process initiated by an in-

crease in the permeability of erythrocyte membranes with a decrease in the concentration and content of hemoglobin in them. To compensate for the resulting hypochromia of erythrocytes, the work of the bone marrow is activated, but prolonged functional load reduces its compensatory potential and, possibly, in combination with a deficiency of structural metabolites (iron, folate, etc.) [19], the quality of erythropoiesis decreases with a tendency to anisocytosis with an increase in the proportion of smaller erythrocytes.

Thus, during gestation, changes in the erythrocyte system occur, out of which the most pronounced is a tendency to hypochromia and an increase in the level of extra-erythrocyte hemoglobin, which form the risk of anemia, but its development requires additional factors, such as an increase in the degree of destruction of erythrocyte membranes and secondary disorders of erythropoiesis (toxic dysfunction, consumption deficit, etc.) [19].

The cows from group 2 were diagnosed with toxic liver dystrophy (hepatosis) and anemia. At the same time, it is difficult to determine the sequence of these diseases development, because in case of anemia there are frequent cases of the hepatobiliary system violations [20, 21], and the hematological changes are observed in case of many liver diseases [22, 23]. Therefore, we state the presence of a combination of these two independent diseases, i. e. there is a comor-

bid pathology. In non-pregnant animals, and in the second trimester of gestation, changes in the studied indicators were similar in direction and severity. Thus, their erythrocyte levels were lower than in healthy ones by 17.1 and 17.2 %, respectively, hemoglobin — by 25.4 and 23.1 %, hematocrit — by 23.3 and 22.6 %, MCH — by 10.5 and 6.3 %, and MCV — by 7.5 and 6.0 %, but higher than the value of EEF by 92.6 and 65.7 %, and RDW — by 41.6 and 38.5 %.

Thus, in non-pregnant animals and in the second trimester of gestation, the development of comorbid pathology, including hepatosis and anemia, there is an increase in the destruction of erythrocyte membranes and anemia with severe hypochromia and erythrocytopenia. The combination of a decrease in the number of erythrocytes and the content of hemoglobin in them is typical of anemia in case of chronic diseases, in the pathogenesis of which there is a combination of iron

deficiency (less often folic acid), impaired synthesis of erythropoietin and hyperproduction of factors that inhibit erythropoiesis. [24]. In addition, in pregnant animals, against the background of a physiological tendency to reduce the volume of erythrocytes and expand the variability of their sizes, an increase in the severity of anisocytosis and microcytosis was noted.

Sick (hepatosis, anemia) cows with a gestational age of 7.5–8.0 months have an identical hematological profile, indicating the presence of hypochromic microcytic anemia with severe dysfunction of erythrocyte membranes and variability in their size (Table 2). In case of the preeclampsia (moderate severity) development at this stage of gestation, there are no significant changes in the erythrocyte system. The exception is an increase in the level of EEF (by 39.5 %) and RDW (by 29.4 %), but a decrease in MCH (by 3.9 %) and MCV (6.6 %), in comparison with healthy animals.

Table 2

Blood hematological indicators of cows with a gestational age of 7.5–8.0 months

Indicators / Group of animals	Healthy	Gestosis	Gestosis, hepatosis, anemia	Hepatosi s, anemia
Erythrocytes, *10 ¹² /L	6.52 ± 0.206	6.56 ± 0.284	5.25 ± 0.163	5.57 ± 0.100
Hemoglobin, g/L	108.5 ± 2.11	105.0 ± 2.21	81.0 ± 1.30	85.3 ± 1.35
Hematocrit, %	31.50 ± 0.414	29.61 ± 0.381	22.5 ± 0.260	24.40 ± 0.371
EEF, g/L	0.38 ± 0.010	0.53 ± 0.008	0.78 ± 0.014	0.65 ± 0.015
MCH, pg	16.65 ± 0.370	16.00 ± 0.368	15.42 ± 0.315	15.30 ± 0.325
MCHC, g/L	344.4 ± 5.31	354.6 ± 4.62	360.0 ± 5.18	349.6 ± 5.47
MCV, μm ³	48.3 ± 0.75	45.1 ± 0.66	42.8 ± 0.61	43.8 ± 1.14
RDW, %	14.80 ± 0.215	19.16 ± 0.308	19.9 ± 0.213	19.5 ± 0.200

* $P < 0.05$

** $P < 0.01$

*** $P < 0.001$ — compared to healthy ones

The most pronounced hematological disorders were found in case of a combination of gestosis, hepatosis and anemia. In these animals, the number of erythrocytes was lower in comparison with healthy ones by 19.5 %, with the animals with hepatosis and anemia — by 5.7 %, and gestosis — by 20.0 %, hemoglobin levels — by 25.3, 5.0 and 22.8 %, respectively, hematocrit — by 28.6, 7.8 and 24.0 %, MCV — by 11.4, 2.3 and 5.1 %. The values of EEF were higher (by 2.1 times, by 20.0 and 47.2 %) and RDW (by 34.4, 2.1 and 3.9 %).

Thus, in case of uncomplicated moderate gestosis, there are no clinically significant changes in the hematological status of animals, but the revealed increase in the permeability of erythrocyte membranes and the severity of anisocytosis, combined with a physiological predisposition in pregnant animals, increases the risk of anemia development. In case of the comorbid variant of gestosis, signs of hypochromic microcytic anemia were revealed, the leading mechanisms of pathogenesis of which are disturbances in the functioning of the bone marrow (anisocytosis, microcytosis), mem-

brane and erythrocyte functions (hypochromia, EEF). However, the noted changes are mainly due not to gestosis, but to concomitant pathologies (anemia, liver pathology), with the exception of membrane dysfunction, the severity of which increases in the presence of preeclampsia. At the same time, it is highly likely that anemia can cause or increase the likelihood of gestosis [25]. This assumption requires appropriate research, because when it is confirmed in animals, a new tactic for the prevention of toxicosis of pregnant animals is formed.

CONCLUSION

The results of hematological studies showed an increase in the extra-erythrocyte fraction of hemoglobin in the cows with uncomplicated gestation, which is due to an increase in the permeability of erythrocyte membranes and is the cause of their hypochromia. As a result, hypochromia occurs, i. e. the oxygen capacity of the blood decreases, which in clinical terms corresponds to a pre-anemia state. To compensate for the risk of hypoxia progression, erythropoiesis is activated, which makes it possible to exclude the development of a full-fledged anemia symptom complex during physiological gestation. However, with prolonged overload of the bone marrow, malfunctions of its work and erythropoiesis processes may occur. Initially, this will manifest as an increase in the variability in the size of erythrocytes with an increase in the proportion of small cells, but then there is a risk of the hypochromic microcytic anemia development. The animals with anemia and toxic liver dystrophy initially have anemia. At the same time, both pathologies have their own complementary mechanisms for the development of anemia, i. e. there is syntropy. In the presence of hepatosis and anemia in pregnant animals, against the background of a tendency to hypochromia revealed in them, there is an increase in the severity of previously existing anemia. The gestosis development does not have a significant effect on the erythrocyte system, but in case of it a more significant increase in the permeability of erythrocyte membranes and a deficiency of hemoglobin was noted. As a result, anemia does not develop in most animals, but the risk of its development increases in the presence of predisposing factors. Therefore, when combined with hepatosis, anemia and gestosis in pregnant animals, the nature of hematological changes is determined by extragenital pathologies. However, in case of this comorbid pathology, the development of a more severe form of anemia is observed, i. e. there is a progressive nature of integral pathogenesis. In this comorbid structure, the combination of liver and blood

diseases is the background, and gestosis is a complicating pathology. The presented results have shown that there is no anemia in healthy animals during gestation. However, there are physiologically determined hematological changes that increase the risk of its occurrence and increase the severity of anemia that occurs when cows have extragenital diseases. Therefore, for the prevention of anemia in pregnant animals, it is necessary to identify anemia in non-pregnant animals or at the early stages of their gestation. During gestation, control of the predisposing factors severity — the content of extra-erythrocyte hemoglobin and its level in erythrocytes. With an increase in these screening indicators, measures should be taken to normalize the membrane structures of the body. For example, it is necessary to prescribe enterosorbents, antihypoxants, antioxidants and other pharmacological agents that reduce the level of endogenous and/or exogenous toxins, restore the integrity and functional activity of biomembranes.

REFERENCES

1. Bakanova K. A. Spread of pathologies of the intranatal and puerperal period in imported heifers and fresh cows. / Bakanova K. A., Kocharyan V. D., Avdeenko V. S., Kocharyan O. K. // Aktualnye problemy intensivnogo razvitiya zhivotnovodstva (Actual problems of intensive development of animal husbandry). — 2022, (25—1). P. 69—76.
2. Khuranov A. M. Some reasons for the development of gynecological diseases in cows in the early postpartum period. / Khuranov A. M., Shamarina A. V., Kardanova I. A., Shamarina A. O. // Izvestiya Kabardino-Balkarskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta im. V. M. Kokova (Proceedings of Kabardino-Balkarian State Agrarian University named after V. M. Kokov). — 2019, 4 (26). — P. 24—28.
3. Nikitin G. S. Evaluation of measurement of progesterone concentration for the diagnosis of gestation and embryonic mortality in dairy cows / G. S. Nikitin, K. V. Plemyashov, A. A. Nikitina, P. S. Anipchenko, N. B. Bazhenova // Bulletin of Veterinary Pharmacology — 2019, 1 (6). — P. 122—128.
4. Nadeev A. P., Karpovich G. S. Extragenital diseases, comorbid conditions and polymorbidity in case of maternal death. // Arkhiv patologii (Archive of pathology). — 2019; 81(4). — P. 11—16.
5. Vannuccini S, Clifton VL, Fraser IS et al. Infertility and reproductive disorders: impact of hormonal and inflammatory mechanisms on pregnancy outcome. // Hum Reprod Update. — 2016, 22 (1). — pp. 104—115.
6. Ivanyuk V. P., Bobkova G. N. Etiopathogenesis of postpartum endometritis in cows. // Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Proceedings of Orenburg State Agrarian University). — 2022, 2 (94). — P. 191—195.

7. Magomedova, Sh. M., Murashko, A. V. Variants of experimental modeling of placental insufficiency and preeclampsia. Proceedings of Dagestan State Pedagogical University. Natural and exact sciences. — 2012, 1. — P. 66—71.
8. Skorikov V. N. Some indicators of the LPO-AOD system in cows with physiological and complicated course of gestation and postpartum period / Skorikov V. N., Mikhailov V. I., Ermolova T. G. // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2021, 4 (17). — P. 54—64.
9. Pereryadkina S. P. Angiogenesis of bovine placenta in case of preeclampsia of pregnant animals / S. P. Pereryadkina [et al.] // Izvestiya Nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa: nauka i vysshee professionalnoe obrazovanie (Proceedings of Nizhnevolzhskiy agro-university complex: science and higher professional education). — 2016. — No. 2 (42). — P. 170—176.
10. Rogers S., Doctor A. Red Blood Cell Dysfunction in Critical Illness // Crit Care Clin, 2020. Vol. 36 (2). P. 267—292.
11. Ronenson A. M., Shifman E. M., Kulikov A. V. Volemic and hemodynamic changes in pregnant, parturient individuals and puerperas. V. F. Snegireva, 2018. V. 5 (1). P. 4—8.
12. Methodical recommendations for the diagnosis, prevention and treatment of hepatopathy in cattle / Yu. N. Alekhin, S. V. Shabunin., M. I. Retskiy, G. N. Bliznetsova, I. R. Sidelnikova, D. B. Chusov, I. A. Nikulin, B. V. Usha, I. A. Shkuratova. — Voronezh, 2009. — 88 p.
13. Methodical recommendations for the diagnosis and treatment of gestosis in dairy cows and sows / A. G. Nezhdanov, S. V. Shabunin, V. D. Misaylov, V. N. Kotsarev, Yu. N. Alekhin, M. I. Retskiy, V. I. Mikhalev, S. M. Suleymanov, G. N. Bliznetsova, V. A. Safonov, T. P. Brekhov, N. A. Gorokhov, E. V. Shishkina, D. A. Erin, S. V. Chupryn, L. V. Rastrizhenkova, V. Yu. Boev. — Voronezh, 2009. — 32 p.
14. Shamratova A. R. Possibilities of hematological analyzers in assessing the physiological and pathological conditions of the body (review). / Shamratova A. R., Shamratova V. G., Kayumova A. F., Ziyakaeva K. R. // Zhurnal mediko-biologicheskikh issledovaniy (Journal of Biomedical Research). — 2021, 9 (1). — P. 89—101.
15. Senchuk I. V. Study of the effect of Oligovit and In-trovit preparations on erythropoiesis and metabolic indicators in heifers. // Izvestiya selskokhozyaystvennoy nauki Tavridy (Proceedings of agricultural science of Tavrida). — 2016, 7 (170). — P. 91—95.
16. Chulanova Yu. S. Placenta previa: risk factors, maternal and perinatal outcomes. / Chulanova Yu. S., Syundyukova E. G., Sashenkov S. L., Chulkov V. S., Ushakova K. A., Tomilova A. G., Filippova N. A., Tarasova L. B., Yakovleva Yu. A. // Uralskiy meditsinskiy zhurnal (Ural Medical Journal). — 2023, 22 (1). — P. 4—13.
17. Katsogiannou E. Diagnostic approach of anemia in ruminants. / Katsogiannou E., Athanasiou L., Christodouloupoulos G., Polizopoulou Z. // Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society. — 2018, 69 (3). — pp. 1033—1046.
18. Methodological guide for the diagnosis and prevention of disorders of antenatal and intranatal origin in calves / GNU VNIVIPFiT (SSI ARVRIPP&T). — Voronezh: Istoki, 2013. — 92 p.
19. Akhmedova Kh. Yu. Comparative analysis of the state of erythropoiesis in case of anemia observed in case of chronic diseases. // Ekonomika i sotsium (Economy and society). — 2021, 4—1 (83). — P. 666—669.
20. Shaposhnikov I. T. Metabolic profile of dry cows with different functional state of the liver / I. T. Shaposhnikov, V. N., Kotsarev, Yu. N. Brigadirov, N. E. Papin // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2018, 1 (2). — P. 94—99.
21. Geltser B. I., Zhilkova, N. N. Changes in hepatic circulation in patients with iron deficiency anemia. // Dalnevostochnyy meditsinskiy zhurnal (Far Eastern Medical Journal). — 2006 (2). — P. 26—28.
22. Mori T. et al. Outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adult patients with hepatitis-associated aplastic anemia // Int J Hematol. — 2019, 109 (6). — pp. 711—717.
23. Lorenz R., Endres S. Clinical manifestation, diagnosis, and treatment of acute hepatitis C in adults. 2017 Retrieved from <http://www.uptodate.com>.
24. Sakhin V. T. Anemia of chronic diseases: features of pathogenesis and possibilities of therapeutic correction (literature review and results of own research). / Sakhin V. T., Madzhanova E. R., Kryukov E. V., Kazakov S. P., Rukavitsyn O. A. // Oncohematology. — 2018, 13 (1). — P. 45—53.
25. Vavina O. V. Iron deficiency anemia in pregnant women and its correction. / Vavina O. V., Puchko T. K., Umralieva M. A. // Meditsinskiy sovet (Medical council). — 2028, 13. — P. 73—76.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Yu. N. Alekhin — Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate;

P. A. Parshin — Doctor of Veterinary Sciences, Professor;

V. I. Morgunova — Candidate of Veterinary Sciences, Principal Scientific Associate;

E. V. Tyurina — Junior Scientific Associate;

A. Yu. Lebedeva — Junior Scientific Associate.

The article was submitted 29.05.2023.

Научная статья

УДК 631.82:636.4.085.1

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2023.3.130

КЛИНИКО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ СВИНЕЙ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ДЛЯ ИХ КОРМЛЕНИЯ ЗЕРНА, ВЫРАЩЕННОГО НА ПОЛЯХ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ ХИМИЗАЦИИ

Ольга Сергеевна Попова*✉, Павел Андреевич Паршин**, Юрий Николаевич Алехин**

*Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины,
Санкт-Петербург, Россия

**Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии,
фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, alef_z@mail.ru✉

Аннотация. В статье представлены результаты исследования по изучению особенностей клинико-физиологического состояния свиней при использовании для их кормления зерна выращенного на полях с разной интенсивностью использования минеральных удобрений

На крупном свиноводческом предприятии, расположенном в Липецкой области, в 2020—2021 гг. провели опыт, объектом исследования которого были 125 клинически здоровых свиней в возрасте 120 суток. Из их числа были сформированы две опытные группы, которые в течение 60 суток получали комбикорм, в состав которого входили ячмень и пшеница произведенные на почвах без применения минеральных удобрений (№ 1, $n = 60$) и с интенсивным их внесением (№ 2, $n = 65$).

Выявлено, что интенсивное применение в полевом кормопроизводстве минеральных удобрений, большинство из которых содержат азот и фосфор, сопровождается увеличением содержания в кормах именно этих элементов, но возникает дисбаланс питательных и биологически активных веществ. В тестовых культурах возникает дефицит кальция и магния. В ячмене накапливается цинк и незначительно увеличивается содержание меди и марганца. В пшенице отмечена обратная тенденция со снижением уровня цинка и меди. В этих кормах, в сравнении с зерном, выращенным без применения минеральных удобрений, выше показатели общей питательности, но их биологическая ценность ниже, что негативно отразилось на состоянии здоровья и продуктивности свиней на откорме. У животных отмечено нарушение функций печени и развитие синдрома эндогенной интоксикации, что стало причиной увеличения их заболеваемости (энтероколит) и снижения активности роста.

Внесение минеральных удобрений, является очевидной необходимостью сохранения плодородия почв и увеличения урожайности кормовых культур. Однако доминирующая в настоящее время практика химизации проводится ограниченным набором биологически значимых элементов, что формирует дисбаланс состава почвы и растений с последующим негативным влиянием на здоровье и продуктивность животных.

Ключевые слова: свиньи, откорм, удобрения, зерновые культуры, почва

Свиноводство является ведущей отраслью мирового животноводства и одним из основных источников полноценных продуктов питания [1]. Достижения селекционно-генетической работы и формирование устойчивой племенной базы во всех экономически развитых странах создает интенсификационный потенциал развития отрасли [2, 3]. Однако важно помнить, что при интенсификации прогрессирует один из основных сдержива-

ющих факторов — организация безопасного и полноценного сбалансированного кормления. Данному вопросу посвящено большое количество публикаций, в которых помимо расширения знаний физиологии кормления, акцентируется внимание на изменение качества кормов, обусловленных антропогенным воздействием [4, 5]. При этом особый интерес представляет роль химизации сельского хозяйства, т. к., ее задача заключается в увеличе-

нии производства продуктов питания для человека и кормов для животных, но она оказалась и основным источником экологического риска [6, 7]. Целью наших исследований была сравнительная оценка клинико-физиологического состояния при использовании для их кормления зерна выращенного на полях с интенсивным внесением минеральных удобрений и свободных от них.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

На крупном свиноводческом предприятии, расположенном в Липецкой области, в 2020—2021 г. г. провели опыт, объектом исследования которого были корма, произведенные на почвах с разным уровнем химизации и свиньи, которые их получали. Производство зерновых кормов в хозяйстве осуществляется на постоянно используемых (окультуренных) и вновь осваиваемых (неокультуренных) участках земли, на которых преобладает чернозем обыкновенный среднемошной среднегумусовый глинистый. При этом, неокulturенные почвы (старопахотные, целина) в течение последних 12—15 лет не использовались, в то время как окультуренные участки находились в постоянной эксплуатации. Тестовыми злаковыми культурами были выбраны пшеница и ячмень, которые являются основными кормами в рационе свиней. Предшественником выращивания указанных культур на неокulturенных участках была целина, а на сопоставимых полях — кукуруза. На интенсивно используемых почвах перед посевом озимой пшеницы вносили 38 кг азота 50,0 кг фосфора и 46,5 кг калия, при посеве — 9,5 кг фосфора, после посева (подкормка) — 49,5 кг азота на гектар. На полях ячменя перед его посевом вносили 73 кг азота, 88,0 кг фосфора и 112 кг калия, при посеве — 9,5 кг фосфора на гектар. На ранее неиспользуемых участках зерновые выращивали без применения удобрений. Полученные на сопоставимых полях корма с помощью общепринятых методик подвергались зоотехническому анализу с определением содержания влаги, сырого протеина, сырой клетчатки, кальция и фосфора с последующим расчетом сухого вещества и обменной энергии [8,9]. Помимо этого, фотометрическим методом после мокрого озоления оценивали уровень фосфора, а с помощью атомно-абсорбционного метода определяли кальций, магний, цинк, медь и марганец [10].

Для оценки влияния зерна, полученного с сопоставимых полей, были отобраны 125 клинически здоровых свиней в возрасте 120 суток (на от-

корме) — трехпородный товарный гибрид: матка (крупная белая + ландрас) и хряк (йоркшир). Из их числа были сформированы две опытные группы, которые в течение 60 суток получали комбикорм, в состав которого входили зерновые с неокulturенных (№ 1, $n = 60$) или окультуренных полей (№ 2, $n = 65$). Комбикорм используемый в сопоставимых группах имел близкие параметры питательности и состоял из ячменя (52 %), пшеницы (35 %), шрота соевого (СП 43,0 %, 8,5 %) и минеральный комплекс (трикальция фосфат, натрия хлорид, премикс 3,5 %). Животные содержались в станках по 15—17 голов в типовом помещении оборудованном самосплавной технологией навозоудаления, приборами обогрева, приточными и вытяжными устройствами с автоматизированной системой управления микроклиматом. Тип кормления сухой со свободным доступом к комбикорму и воде (поилки ниппельные). Свиней в возрасте 110 суток переводили на участок откорма, где в течение 10 суток они адаптировались к новым условиям содержания и в возрасте 120 суток им начинали скармливать тестируемый комбикорм в течение всего периода откорма (80 суток). В первый (120 сут.) и последний (200 сут.) день опыта определяли массу тела животных, а у 6 голов из каждой группы отбирали пробы крови с правой стороны из яремной вены в вакуумные пробирки ЕЛАМЕД с антикоагулянтом (K_3 ЭДТА) для сохранения ее интактного состояния и с активатором свертывания (SiO_2) для получения сыворотки (АО «Елатомский приборный завод», Россия).

В образцах крови определяли в сыворотке крови уровень аланинтрансферазы (АлАТ), аспарататаминотрансферазы (АсАТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), общего белка, глюкозы, креатинина, мочевины, холестерина, триглицеридов, кальция, фосфора, магния, (коммерческие наборы реактивов, АО «Диакон-ДС», Россия), молекулы средней массы (МСМ) на длине волны 254 нм [11]. Помимо этого, изучали концентрацию малонового диальдегида методом осаждения фосфовольфрамовой кислотой, с тиобарбитуровой кислотой [12]. На атомно-абсорбционном спектрофотометре Perkin Elmer mod. 703 (США) в цельной крови изучали содержание меди, цинка, железа, марганца и кобальта.

Результаты исследований подвергали статистической обработке с помощью программ «Statistica 8.0». При этом рассчитывали среднюю арифметическую и ее ошибку ($M \pm m$), а также достоверность межгруппового различия (p) по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На окультуренных сельхозугодиях урожайность озимой пшеницы составила 40,8 ц/га, а ячменя 35,5 ц/га, в то время как на целине было отмечено снижение урожая, соответственно на 8,1 %

(37,5 ц/га) и 5,6 % (33,5 ц/га). В таблице № 1 представлены результаты изучения содержания питательных и минеральных веществ в тестовых кормах (зерновые) выращенных на окультуренных и неокультуренных полях.

Таблица 1

Содержание питательных веществ и минералов в ячмене и пшенице выращенных на окультуренных и неокультуренных полях (в кг натурального корма)

Показатели	Ячмень		Пшеница (озимая) твердых сортов	
	Неокультуренные почвы	Окультуренные почвы (n = 4)	Неокультуренные почвы (n = 4)	Окультуренные почвы (n = 4)
Количество проб	4	4	4	4
Сухое вещество, г	839,3 ± 2,80	841,3 ± 2,74	846,3 ± 3,10	848,2 ± 3,30
Сырой протеин, г	111,8 ± 2,12	114,0 ± 1,10	140,0 ± 2,37	147,5 ± 2,105
Обменная энергия, МДж	9,80 ± 0,505	10,3 ± 0,418	10,1 ± 0,63	10,8 ± 0,68
Сырая клетчатка, г	47,0 ± 0,70	46,2 ± 0,63	27,2 ± 0,65	26,3 ± 0,48
Кальций, г	1,86 ± 0,060	1,64 ± 0,048 **	0,85 ± 0,013	0,62 ± 0,011***
Фосфор, г	3,57 ± 0,103	3,88 ± 0,085*	4,15 ± 0,130	4,76 ± 0,100***
Магний, г	1,06 ± 0,030	0,95 ± 0,026**	1,20 ± 0,042	1,00 ± 0,039**
Цинк, мг	38,8 ± 2,160	54,3 ± 2,050***	41,8 ± 1,35	37,8 ± 1,05*
Медь, мг	4,53 ± 0,110	4,67 ± 0,103	2,34 ± 0,041	2,25 ± 0,030*
Марганец, мг	13,0 ± 1,02	13,4 ± 0,68	40,8 ± 1,06	41,2 ± 1,102

* $P < 0,05$

** $P < 0,01$

*** $P < 0,001$ — в сравнении с зерном, полученном на неокультуренных почвах

Как в ячмене, так и в пшенице выращенных на окультуренных полях наблюдается тенденция ($p \geq 0,5$) к увеличению сухого вещества, сырого протеина и обменной энергии, но уменьшения сырой клетчатки. Более выраженное различие отмечено в минеральном составе кормов. Уровень кальция в ячмене с окультуренных полей оказался ниже, чем с целины, на 11,8 %, а в пшенице на 27,1 %, магния на 10,4 и 16,7 %, но выше были показатели фосфора на 8,7 и 14,7 %, и марганца на 3,1 и 1,0 %. В ячмене с интенсивно используемых полей содержание цинка было выше, чем с неокультуренных участков на 39,9 %, а меди на 3,1 %, но в пшенице эти показатели оказались соответственно ниже на 9,6 и 3,8 %.

В период с 1990 до 2016 год количество внесения минеральных удобрений в России уменьшилось с 112 до 25 кг/га, что значительно ниже, чем вынос элементов питания урожаем возделываемых культур. И хотя при этом отмечается некоторое увеличение урожайности зерновых, но это обусловлено не увеличением плодородия почв, а тем, что с 2000 года, из оборота выводились слабоокультуренные почвы, на которых возделывание сельскохозяйственных культур было не рентабельным [13]. В последние годы отмечена тенденция к увеличению химизации почвы, но следует признать, что содержание гумуса даже на черноземных почвах подходит к критической отметке [14]. При этом имеет место не только валовой дефицит

питания растений, но и его дисбаланс. Так, в растениеводстве наиболее активно используют минеральные удобрения, ориентированные на увеличение урожая. Большинство из них содержат азот и фосфор, что обеспечивает увеличение этих элементов в почве [15] и как показали наши исследования в растениях. Однако при этом формируется дисбаланс питательных и биологически активных веществ в растениях за счет изменения характера взаимоотношений между ними и ограниченностью набора вносимых элементов подкормки [16]. В результате, как показали наши исследования в тестовых культурах возникает дефицит кальция и магния. В ячмене накапливается цинк и незначительно увеличивается содержание меди и марганца. В пшенице отмечена обратная тенденция со снижением уровня цинка и меди.

Результаты клинического наблюдения за животными из сопоставимых групп показали, что в течение всего опыта не было случаев их гибели. На 34—40 дни опыта у 5 животных из группы

№ 1 и у 12 гол. — гр. № 2 наблюдались симптомы энтероколита в виде ослабления аппетита и поноса, при этом фекалии были мазеподобные светлорыжевого цвета с примесью слизи. Симптомы наблюдали в течение 2—4 дней, но затем они исчезали без применения лекарственных средств. Однако, у 7 больных из группы № 2 заболевание перешло в хроническую форму, на что указывало вздутие живота, ложные позывы к дефекации (обычно в первые 20 минут после потребления корма) и увеличение длительности диареи (до 8—15 дней), фекалии были водянистые или мазеподобные с содержанием крови и/или большого количества слизи. У больных не отмечали повышения температуры и общего угнетения.

Результаты взвешивания свиней представлены в таблице 2. При этом, учитывая, что у больных нарушаются процессы роста и сложно объективно дифференцировать роль алиментарных факторов, массометрию проводили только у здоровых животных.

Таблица 2

Биохимические показатели крови поросят из группы откорма

Показатели / Группа животных	Группа № 1		Группа № 2	
	120	200	120	200
Возраст, сут				
Масса тела, кг	37,2 ± 1,70	103,4 ± 2,50	37,9 ± 1,00	93,5 ± 1,65
Среднесуточный привес, г	830,0 ± 10,00		695,0 ± 8,20	

В первый день опыта не было достоверного различия массы тела животных в сопоставимых группах. Интенсивность роста в течение опыта у свиней, комбикорм которых содержал зерновые, выращенные на целине оказалась выше, чем в сопоставимой группе на 19,4 % ($P < 0,001$), что со-

ответственно отразилось на массе тела в конце наблюдения. В таблице 3 представлены результаты анализа состава крови клинически здоровых животных где видно, что в течение опыта произошли разные по выраженности и направлению изменения их биохимического статуса.

Таблица 3

Биохимические показатели крови поросят из группы откорма

Показатели / Группа животных	Группа № 1		Группа № 2	
	120	200	120	200
1	2	3	4	5
Общий белок, г/л	72,10 ± 1,15	71,50 ± 1,31	72,0 ± 1,09	76,0 ± 1,19*
Мочевина, мм/л	3,88 ± 0,075	3,97 ± 0,050	3,90 ± 0,062	3,50 ± 0,060***
Креатинин, мкМ/л	142,6 ± 3,70	145,0 ± 4,62	143,0 ± 2,41	176,0 ± 5,27***

Окончание табл. 3

1	2	3	4	5
ЩФ, Е/л	140,0 ± 10,20	137,5 ± 9,60	140,8 ± 8,11	190,0 ± 5,14***
АсАТ, Е/л	41,8 ± 2,97	43,0 ± 3,72	42,1 ± 2,37	50,3 ± 4,20
АлАТ, Е/л	37,0 ± 1,90	37,0 ± 1,90	37,5 ± 1,48	53,2 ± 4,74**
Кальций, мМ/л	2,60 ± 0,037	2,57 ± 0,040	2,62 ± 0,029	2,78 ± 0,025***
Фосфор, мМ/л	2,82 ± 0,025	2,80 ± 0,015	2,79 ± 0,030	3,22 ± 0,024***
Глюкоза, мМ/л	3,47 ± 0,115	3,50 ± 0,121	3,45 ± 0,110	3,69 ± 0,175
Триглицериды, мМ/л	0,41 ± 0,050	0,46 ± 0,081	0,43 ± 0,038	0,50 ± 0,065
Холестерин, мМ/л	1,64 ± 0,050	1,81 ± 0,063	1,65 ± 0,072	1,44 ± 0,045***
Магний, мг/%	2,50 ± 0,013	2,58 ± 0,026	2,50 ± 0,010	2,44 ± 0,017***
СБЙ, мкг/%	3,43 ± 0,108	3,41 ± 0,172	3,40 ± 0,097	2,60 ± 0,133***
МСМ 254, усл. ед.	0,272 ± 0,013	0,280 ± 0,006	0,281 ± 0,018	0,311 ± 0,006***
МДА, нМ/мл	0,680 ± 0,015	0,638 ± 0,012	0,689 ± 0,020	0,726 ± 0,010***
Железо, мМ/л	4,31 ± 0,027	4,42 ± 0,040	4,33 ± 0,015	4,37 ± 0,052
Медь, мкМ/л	14,8 ± 0,327	16,3 ± 0,219	15,0 ± 0,260	15,0 ± 0,485*
Цинк, мкМ/л	40,9 ± 1,31	42,5 ± 1,75	40,7 ± 1,13	36,0 ± 1,55**
Марганец, мкМ/л	3,0 ± 0,15	3,1 ± 0,21	3,0 ± 0,21	3,0 ± 0,16
Кобальт, мкМ/л	0,77 ± 0,041	0,75 ± 0,036	0,75 ± 0,039	0,71 ± 0,027

* $P < 0,05$

** $P < 0,01$

*** $P < 0,001$ — в сравнении с животными с аналогичной массой тела из группы № 1

В течение опыта у свиней из группы № 1 наблюдается тенденция к уменьшению общего белка (на 0,8 %, $p \geq 0,5$), ЩФ (на 1,8 %, $p \geq 0,5$), кальция (на 1,15 %, $p \geq 0,5$), фосфора, то у животных из сопоставимой группы наоборот отмечено увеличение данных показателей соответственно на 5,5, 34,9, 6,1 и 15,4 %. Разнонаправленная динамика биохимических показателей также проявилась тем, что у животных из группы № 1 наблюдается увеличение, а в гр. № 2 — снижение величин холестерина соответственно на 10,3 и 12,7 %, мочевины на 2,3 и 10,2 %, магния на 3,2 и 12,7 %, цинка на 3,9 и 11,5 %. На заключительном этапе опыта у животных получающих комбикорм с зерновыми выращенными на окультуренных полях оказалось выше, чем у свиней из группы № 2 уро-

вень общего белка (на 6,3 %), креатинина (21,4 %), ЩФ (38,2 %), АсАТ (17,0 %), АлАТ (43,8 %), кальция (8,2 %), фосфора (15,0 %), глюкозы (5,4 %), но ниже мочевины (на 11,8 %), холестерина (20,4 %), магния (5,4 %), СБЙ (23,7 %), меди (8,9 %), цинка (15,3 %) и кобальта (на 5,3 %). Помимо этого, у свиней из группы № 2 в конце опыта отмечено накопление маркеров синдрома эндогенной интоксикации, так содержание МСМ и МДА у них оказалось выше верхнего предела нормы, а в сравнении с уровнем сопоставимых животных на 11,1 и 13,8 %.

Таким образом, несмотря на отмеченное увеличение питательности кормов на фоне химизации почвы их биологическая ценность снизилась, что вероятно обусловлено дисбалансом физиоло-

гически активных веществ (минералов). При этом у животных наблюдается повышение активности аминотрансфераз и ЩФ, что в сочетании с низким уровнем холестерина указывает на высокую вероятность нарушения мембранных структур в организме и функциональную перегрузку печени [17,18]. Низкий уровень йода, связанного с белками крови (СБЙ) указывает на ослабление функционального состояния щитовидной железы, так как это большая часть тиронинов [19]. И хотя отмеченные нарушения обмена веществ имеют умеренную степень выраженности их многоплановость патологического действия формирует клинически значимый интегральный эффект с развитием синдрома эндогенной интоксикации, увеличения заболеваемости (энтероколит) и снижения активности роста.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Внесение минеральных удобрений, является очевидной необходимостью сохранения плодородия почв и увеличения урожайности кормовых культур. Однако доминирующая в настоящее время практика химизации проводится ограниченным набором биологически значимых элементов, что формирует дисбаланс состава почвы и растений с последующим негативным влиянием на здоровье и продуктивность животных. При этом патогенетический эффект, вероятно, обусловлен изменением метаболических процессов на фоне избытка или дефицита биологически активных веществ, в частности, минералов, а также накоплением токсических продуктов нарушенного обмена веществ и некоторых элементов, уровень которых повышен в растениях, и они уже являются антропогенными токсикантами.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Плаксин И. Е., Плаксин С. И., & Трифанов А. В. (2022). Тенденции и перспективы развития свиноводства в России. *АгроЭкоИнженерия*. — № 1 (110). — с. 155—168
2. Павлова С. В., Козлова Н. А., Щавликова Т. Н. Показатели работы селекционно-генетических центров по совершенствованию воспроизводительных, откормочных и мясных качеств свиней. Эффективное животноводство. — 2021. № 8 (174). — с. 102—106
3. Тихомиров А. И. Внедрение современных селекционных достижений в свиноводстве — ключевой фактор модернизации отрасли / А. И. Тихомиров // *Вестник Всероссийского научно-исследовательского института механизации животноводства*. — 2017. — № 3(27). — С. 15—22. — EDN ZMJMEH.
4. Н. В. Сырчина, Л. В. Пилип, Г. Я. Кантор, & Т. Я. Ашихмина (2023). Влияние органических удобрений и натуральных мелиорантов на подвижность марганца в почве. *Проблемы региональной экологии*. — № 1. — С. 5—9
5. Елсукова Е. Ю., Недбаев И. С., Кузьмина Д. С. (2022). Загрязнение почв в зоне воздействия производства фосфорных удобрений. *Вестник Санкт-Петербургского университета. Науки о Земле*. № 67 (4). — с. 652—674
6. Жешиева А. Н., Жуков В. В. (2020). Оценка экологического риска для здоровья населения, проживающих в Саратовской области при воздействии соединений тяжелых металлов на продукты питания. *Бюллетень медицинских интернет-конференций*. — № 10 (1). с. 6.
7. Прокина Л. Н. (2018). Влияние средств химизации на питательную ценность многолетних трав в полевом севообороте. *Международный сельскохозяйственный журнал*. — № 6. — с. 56—59.
8. Мотовилов К. Я. Экспертиза кормов и кормовых добавок / К. Я. Мотовилов [и др.]. — Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2004. — 303 с.;
9. Петухова Е. А. Зоотехнический анализ кормов / Е. А. Петухова, Р. Ф. Бессарабова, Л. Д. Халенева, и др.. — М.: Колос, 2014. — 256 с
10. Косолапов В. М., Чуйков В. А., Худякова Х. К., Косолапова В. Г. Минеральные элементы в кормах и методы их анализа: моно-графия. — Москва: ООО «Угрешская типография», 2019. — 272 с.
11. Алехин Ю. Н. Эндогенные интоксикации у животных и их диагностика. *Методические рекомендации*. Воронеж: ГНУ ВНИВИПФиТ, 2000, 12 с.
12. Коробейникова Е. Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с ТБК. *Лаб. дело*, 1989, 7: 8—9
13. Осипов А. И. (2020). Роль удобрений в плодородии почв и питании растений. *Здоровье — основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения*. — № 15 (2). — с. 874—887.
14. Плотников А. М., Горбунов М. Ю., Уткин А. В. (2015). Оценочный критерий порчи земель сельскохозяйственного назначения при снижении содержания гумуса почвы. *Вестник Курганской ГСХА*. — № 1 (13). — с. 60—63
15. Плотников А. М. (2019). Зависимость урожайности зерновых культур от содержания в почве доступных форм фосфора и калия. *Вестник Курганской ГСХА*. — № 1 (29). — с. 17—20.
16. Логинова И. Сложные взаимоотношения между элементами: антагонизм и синергизм // *Специальный выпуск изданий «Агрохимия-2015»*. — К.: Инфоиндустрия, 2015. — С. 33—37.
17. Мерзленко Р. А., Стрельников С. А. Профилактика и лечение жировой печени у свиней. — Белгород: Политера, 2018. — 111 с.

18. Кузнецов В. И., Моррисон, В. В., Лиско, О. Б., Царева, Т. Д., Сретенская, Д. А., Гаврилова, И. Б., Хлебжарова, О. А. (2014). Липиды в структуре и функционировании биологических мембран. Саратовский научно-медицинский журнал, 10 (2), 262—266.

19. McAninch EA, Bianco AC. The History and Future of Treatment of Hypothyroidism. Ann Intern Med. 2016 Jan 5;164(1):50—6. doi: 10.7326/M15—1799. Erratum in: Ann Intern Med. 2016 Mar 1;164(5):376. PMID: 26747302; PMCID: PMC4980994.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

О. С. Попова — кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры фармакологии и токсикологии;

П. А. Паршин — доктор ветеринарных наук, профессор, директор;

Ю. Н. Алехин — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник отдела экспериментальной терапия.

Статья поступила в редакцию 13.07.2023 г.

CLINICAL AND PHYSIOLOGICAL STATE OF PIGS WHEN FEEDING THEM WITH THE GRAIN GROWN IN THE FIELDS WITH VARIOUS LEVELS OF CHEMICALIZATION

Olga Sergeevna Popova*✉, Pavel Andreevich Parshin**, Yuriy Nikolaevich Alekhin**

**St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, St. Petersburg, Russia*

***All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia, alef_z@mail.ru✉*

Abstract. The article presents the results of the research on the study of the characteristics of the clinical and physiological state of pigs when feeding them with the grain grown in the fields with various intensity of the use of mineral fertilizers.

In 2020—2021, at a large pig breeding enterprise located in Lipetsk region, there was conducted an experiment, the object of which was 125 clinically healthy pigs at the age of 120 days. Two experimental groups were formed out of them, the animals of which received compound feed for 60 days, which included barley and wheat produced on soils without the use of mineral fertilizers (No. 1, $n = 60$) and with their intensive application (No. 2, $n = 65$).

It has been revealed that the intensive use of mineral fertilizers in the field forage production, most of which contain nitrogen and phosphorus, is accompanied by an increase in the content of these elements in the feed, but there is an imbalance of nutrients and biologically active substances. Test cultures are deficient in calcium and magnesium. Zinc accumulates in barley and the content of copper and manganese slightly increases. In wheat, the opposite trend was noted with a decrease in the level of zinc and copper. In these feeds, in comparison with the grain grown without the use of mineral fertilizers, the overall nutritional value is higher, but their biological value is lower, which negatively affected the health and productivity of fattening pigs. Liver dysfunction and the development of endogenous intoxication syndrome were noted in the animals, which caused an increase in their morbidity (enterocolitis) and a decrease in growth activity.

The application of mineral fertilizers is an obvious need to preserve soil fertility and increase the yield of fodder crops. However, the currently dominant practice of chemicalization is carried out with a limited set of biologically significant elements, which creates an imbalance in the composition of soil and plants with a subsequent negative effect on the health and productivity of animals.

Keywords: pigs, fattening, fertilizers, crops, soil

Pig breeding is the leading branch of the world animal husbandry and one of the main sources of high-grade foodstuffs [1].

Achievements in breeding and genetic work and the formation of a stable breeding base in all economically developed countries create an intensification potential for the industry development [2, 3].

However, it is important to remember that with the intensification, one of the main limiting factors progresses — the organization of a safe and complete balanced feeding. A large number of publications are devoted to this issue, in which, in addition to expanding knowledge of the physiology of feeding, attention is focused on changes in the quality of feed due to an-

thropogenic effect [4, 5]. At the same time, the role of chemicalization of agriculture is of particular interest, since its task is to increase the production of food for humans and animal feed, but it also turned out to be the main source of environmental risk [6,7]. The objective of our research was a comparative assessment of the clinical and physiological state when using the grain grown in the fields with intensive application of mineral fertilizers and free from them.

MATERIAL AND METHODS

In 2020—2021 at a large pig breeding enterprise located in Lipetsk region, there was conducted an experiment, the object of which was the feed produced

on soils with different levels of chemicalization and the pigs that received them. The production of grain fodder on the farm is carried out on constantly used (cultivated) and newly developed (non-cultivated) plots of land, on which ordinary medium-thick, medium-humus clayey black soil predominates. At the same time, uncultivated soils (old arable, virgin soil) have not been used over the past 12—15 years, while cultivated areas have been in constant operation. Wheat and barley were selected as test grain crops, which are the main feeds in the diet of pigs.

The forerunner of the cultivation of these crops on uncultivated plots was virgin lands, and on comparable fields — corn. On intensively used soils, before sowing winter wheat, 38 kg of nitrogen, 50.0 kg of phosphorus and 46.5 kg of potassium were applied, when sowing — 9.5 kg of phosphorus, after sowing (top dressing) — 49.5 kg of nitrogen per hectare. In the fields of barley, before sowing, 73 kg of nitrogen, 88.0 kg of phosphorus and 112 kg of potassium were applied, while sowing — 9.5 kg of phosphorus per hectare. In previously unused areas, grains were grown without the use of fertilizers. The forages obtained on comparable fields were subjected to zootechnical analysis with the determination of moisture content, crude protein, crude fiber, calcium and phosphorus with the subsequent calculation of dry matter and exchange energy using generally accepted methods [8,9]. In addition, the level of phosphorus was assessed by the photometric method after wet ashing, and calcium, magnesium, zinc, copper and manganese were determined using the atomic absorption method [10].

To assess the effect of epy grain obtained from comparable fields, 125 clinically healthy pigs at the age of 120 days (fattening) were selected — a three-breed commercial hybrid: breeding pig (Large White + Landrace) and boar (Yorkshire). Two experimental groups were formed out of them, which received compound feed for 60 days, which included grains from uncultivated (No. 1, $n = 60$) or cultivated fields (No. 2, $n = 65$). Compound feed used in comparable groups had similar nutritional parameters and consisted of barley (52 %), wheat (35 %), soybean meal (SP 43.0 %, 8.5 %) and a mineral complex (tricalcium phosphate, sodium chloride, premix 3.5 %). The animals were kept in pens for 15—17 animal units in a standard room equipped with self-alloying manure removal technology, heating devices, supply and exhaust devices with an automated microclimate control system. The type of feeding is dry with free access to compound feed and water (nipple drinkers). Pigs at the age of 110 days were transferred to the fattening area,

where they adapted to the new conditions of keeping within 10 days and at the age of 120 days they were fed the test compound feed during the entire fattening period (80 days). On the first (120 days) and last (200 days) days of the experiment, the body weight of the animals was determined, and blood samples were taken from the right side of the jugular vein in 6 animals from each group into ELAMED vacuum tubes with anticoagulant (K_3EDTA) to preserve its intact state and with a coagulation activator (SiO_2) for serum production (JSC Elatomskiy Instrument Plant, Russia).

In blood samples, the levels of alanine transferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (AP), total protein, glucose, creatinine, urea, cholesterol, triglycerides, calcium, phosphorus and magnesium were determined in the blood serum (commercial kits of reagents, JSC Diakon-DS, Russia), medium weight molecules (MWM) at a wavelength of 254 nm [11]. In addition, the concentration of malondialdehyde was studied by precipitation with phosphotungstic acid, with thiobarbituric acid [12].

The whole blood content of copper, zinc, iron, manganese and cobalt was studied on an atomic absorption spectrophotometer Perkin Elmer mod. 703 (USA).

The research results were subjected to statistical processing using the programs Statistica 8.0. At the same time, the arithmetic mean and its error ($M \pm m$), as well as the significance of the intergroup difference (p) were calculated according to Student's t -test.

STUDY RESULTS AND DISCUSSION

On cultivated farmland, the yield of winter wheat was 40.8 centners per hectare (c/ha), and barley — 35.5 c/ha, while on virgin lands there was a decrease in yield by 8.1 % (37.5 c/ha) and 5.6 % (33.5 c/ha), respectively. Table No. 1 presents the results of studying the content of nutrients and minerals in the test feeds (grain) grown on cultivated and uncultivated fields.

Both in barley and wheat grown on cultivated fields, there is a tendency ($p \geq 0.5$) to increase dry matter, crude protein and metabolic energy, but reduce crude fiber. A more pronounced difference was noted in the mineral composition of the feed. The level of calcium in barley from cultivated fields turned out to be lower by 11.8 % than from virgin lands, and in wheat — by 27.1 %, magnesium — by 10.4 and 16.7 %, but phosphorus was higher by 8.7 and 14.7 %, and manganese — by 3.1 and 1.0 %. In the barley from intensively used fields, the zinc content was higher by 39.9 % than from uncultivated plots, and copper — by 3.1 %, but in wheat these figures were lower by 9.6 and 3.8 %, respectively.

Table 1

Content of nutrients and minerals in the barley and wheat grown in cultivated and uncultivated fields (in kg of natural feed)

Indicators	Barley		Winter durum wheat	
	Uncultivated soils	Cultivated soils (n = 4)	Uncultivated soils (n = 4)	Cultivated soils (n = 4)
Number of samples	4	4	4	4
Dry matter, g	839.3 ± 2.80	841.3 ± 2.74	846.3 ± 3.10	848.2 ± 3.30
Crude protein, g	111.8 ± 2.12	114.0 ± 1.10	140.0 ± 2.37	147.5 ± 2.105
Metabolic energy, MJ	9.80 ± 0.505	10.3 ± 0.418	10.1 ± 0.63	10.8 ± 0.68
Crude fiber, g	47.0 ± 0.70	46.2 ± 0.63	27.2 ± 0.65	26.3 ± 0.48
Calcium, g	1.86 ± 0.060	1.64 ± 0.048 **	0.85 ± 0.013	0.62 ± 0.011***
Phosphorus, g	3.57 ± 0.103	3.88 ± 0.085*	4.15 ± 0.130	4.76 ± 0.100***
Magnesium, g	1.06 ± 0.030	0.95 ± 0.026**	1.20 ± 0.042	1.00 ± 0.039**
Zinc, mg	38.8 ± 2.160	54.3 ± 2.050***	41.8 ± 1.35	37.8 ± 1.05*
Copper, mg	4.53 ± 0.110	4.67 ± 0.103	2.34 ± 0.041	2.25 ± 0.030*
Manganese, mg	13.0 ± 1.02	13.4 ± 0.68	40.8 ± 1.06	41.2 ± 1.102

* $P < 0.05$

** $P < 0.01$

*** $P < 0.001$ — in comparison with the grain obtained on uncultivated soils

In the period from 1990 to 2016, the amount of mineral fertilizer application in Russia has decreased from 112 to 25 kg/ha, which is significantly lower than the removal of nutrients from the crops. And although there is a slight increase in grain yields, this is due not to an increase in soil fertility, but to the fact that since 2000 poorly cultivated soils, on which the cultivation of crops was not profitable, were taken out of circulation [13]. In recent years, there has been a tendency to increase the chemicalization of the soil, but it should be recognized that the humus content, even in black soils, approaches a critical level [14]. At the same time, there is not only a gross deficiency of plant nutrition, but also its imbalance. Thus, in crop production, mineral fertilizers are most actively used, aimed at increasing the yield. Most of them contain nitrogen and phosphorus, which provides an increase in these elements in the soil [15] and as shown by our studies in plants. However, at the same time, an imbalance of nutrients and biologically active substances in plants is formed due to a change in the nature of the relationship between them and a limited set of introduced feeding el-

ements [16]. As a result, as shown by our studies in test cultures, there is a deficiency of calcium and magnesium. Zinc accumulates in barley and the content of copper and manganese slightly increases. In wheat, the opposite trend was noted with a decrease in the level of zinc and copper.

The results of clinical observation of the animals from comparable groups showed that during the entire experiment there were no cases of their death. On days 34—40 of the experiment, in 5 animals from group No. 1 and in 12 animals — group No. 2, symptoms of enterocolitis were observed in the form of a decrease in appetite and diarrhea, while the feces were greasy, light brown in color with an admixture of mucus. The symptoms were observed within 2—4 days, but then they disappeared without the use of drugs. However, in 7 sick animals from group No. 2, the disease turned into a chronic form, as indicated by bloating, false urge to defecate (usually in the first 20 minutes after eating food) and an increase in the duration of diarrhea (up to 8—15 days), feces were watery or greasy, containing blood and/or a lot of mucus. The sick animals

did not demonstrate an increase in temperature and general depression.

The results of weighing pigs are presented in Table 2. At the same time, given that growth processes are disturbed in sick animals and it is difficult to objectively differentiate the role of alimentary factors, massmetrics was performed only in healthy animals.

On the first day of the experiment, there was no significant difference in the body weight of the animals in comparable groups. During the experiment,

the intensity of growth in the pigs, the feed of which contained the grains grown in virgin lands, was higher by 19.4 % ($P < 0.001$) than in the comparable group, which accordingly affected the body weight at the end of the observation.

Table 3 presents the results of the blood composition analysis of clinically healthy animals, where it can be seen that during the experiment there were changes in their biochemical status that were different in severity and the direction of their biochemical status change.

Table 2

Biochemical blood indicators of piglets from the fattening group

Indicators / Group of animals	Group No. 1		Group No. 2	
Age, days	120	200	120	200
Body weight, kg	37.2 ± 1.70	103.4 ± 2.50	37.9 ± 1.00	93.5 ± 1.65
Average daily weight gain, g	830.0 ± 10.00		695.0 ± 8.20	

Table 3

Biochemical blood indicators of the piglets from the fattening group

Indicators / Group of animals	Group No. 1			Group No. 2	
Age, days	120	200	120	200	
	1	2	3	4	5
Total protein, g/L	72.10 ± 1.15	71.50 ± 1.31	72.0 ± 1.09	76.0 ± 1.19*	
Urea, mm/L	3.88 ± 0.075	3.97 ± 0.050	3.90 ± 0.062	3.50 ± 0.060***	
Creatinine, µM/L	142.6 ± 3.70	145.0 ± 4.62	143.0 ± 2.41	176.0 ± 5.27***	
AP, U/L	140.0 ± 10.20	137.5 ± 9.60	140.8 ± 8.11	190.0 ± 5.14***	
AST, U/L	41.8 ± 2.97	43.0 ± 3.72	42.1 ± 2.37	50.3 ± 4.20	
ALT, U/L	37.0 ± 1.90	37.0 ± 1.90	37.5 ± 1.48	53.2 ± 4.74**	
Calcium, mm/L	2.60 ± 0.037	2.57 ± 0.040	2.62 ± 0.029	2.78 ± 0.025***	
Phosphorus, mm/L	2.82 ± 0.025	2.80 ± 0.015	2.79 ± 0.030	3.22 ± 0.024***	
Glucose, mM/L	3.47 ± 0.115	3.50 ± 0.121	3.45 ± 0.110	3.69 ± 0.175	
Triglycerides, mM/L	0.41 ± 0.050	0.46 ± 0.081	0.43 ± 0.038	0.50 ± 0.065	
Cholesterol, mM/L	1.64 ± 0.050	1.81 ± 0.063	1.65 ± 0.072	1.44 ± 0.045***	
Magnesium, mg/%	2.50 ± 0.013	2.58 ± 0.026	2.50 ± 0.010	2.44 ± 0.017***	
PBI, µg/%	3.43 ± 0.108	3.41 ± 0.172	3.40 ± 0.097	2.60 ± 0.133***	

Table 3 (the end)

1	2	3	4	5
MWM ₂₅₄ c. u.	0.272 ± 0.013	0.280 ± 0.006	0.281 ± 0.018	0.311 ± 0.006***
MDA, nM/ml	0.680 ± 0.015	0.638 ± 0.012	0.689 ± 0.020	0.726 ± 0.010***
Iron, mm/L	4.31 ± 0.027	4.42 ± 0.040	4.33 ± 0.015	4.37 ± 0.052
Copper, µM/L	14.8 ± 0.327	16.3 ± 0.219	15.0 ± 0.260	15.0 ± 0.485*
Zinc, µM/L	40.9 ± 1.31	42.5 ± 1.75	40.7 ± 1.13	36.0 ± 1.55**
Manganese, µM/L	3.0 ± 0.15	3.1 ± 0.21	3.0 ± 0.21	3.0 ± 0.16
Cobalt, µM/L	0.77 ± 0.041	0.75 ± 0.036	0.75 ± 0.039	0.71 ± 0.027

* $P < 0.05$

** $P < 0.01$

*** $P < 0.001$ — in comparison with the animals with a similar body weight from group No. 1

During the experiment, the pigs from group No. 1 tend to decrease in total protein (by 0.8 %, $p \geq 0.5$), alkaline phosphatase (by 1.8 %, $p \geq 0.5$), calcium (by 1.15 %, $p \geq 0.5$), phosphorus than in the animals from the comparable group, on the contrary, an increase in these indicators by 5.5, 34.9, 6.1 and 15.4 %, respectively, was noted. The multidirectional dynamics of biochemical indicators also manifested itself in the fact that in the animals from group No. 1 an increase was observed, and in group No. 2 — a decrease in cholesterol values by 10.3 and 12.7 %, respectively, urea — by 2.3 and 10.2 %, magnesium — by 3.2 and 12.7 %, zinc — by 3.9 and 11.5 %. At the final stage of the experiment, the level of total protein (by 6.3 %), creatinine (21.4 %), alkaline phosphatase (38.2 %) was higher in the animals receiving compound feed with the grain grown in cultivated fields than in the pigs from group No. 2, AST (17.0 %), ALT (43.8 %), calcium (8.2 %), phosphorus (15.0 %), glucose (5.4 %) but lower than urea (by 11.8 %), cholesterol (20.4 %), magnesium (5.4 %), PBI (23.7 %), copper (8.9 %), zinc (15.3 %) and cobalt (by 5.3 %). In addition, at the end of the experiment, in the pigs from group No. 2, the accumulation of endogenous intoxication syndrome markers was noted, so the content of MWM and MDA in them turned out to be higher than the upper limit of the norm, and in comparison with the level of comparable animals — by 11.1 and 13.8 %.

Thus, despite the noted increase in the nutritional value of forages against the background of soil chemicalization, their biological value decreased, which was probably due to an imbalance of physiologically active

substances (minerals). At the same time, an increase in the activity of aminotransferases and alkaline phosphatase is observed in animals, which in combination with low cholesterol levels, indicates a high probability of damage to membrane structures in the body and functional overload of the liver [17,18]. A low level of protein-bound iodine (PBI) indicates a weakening of the functional state of the thyroid gland, since this is a large part of thyronins [19]. And although the noted metabolic disorders have a moderate degree of severity, their multifaceted pathophysiological action forms a clinically significant integral effect with the development of endogenous intoxication syndrome, an increase in morbidity (enterocolitis) and a decrease in growth activity.

CONCLUSION

The application of mineral fertilizers is an obvious need to preserve soil fertility and increase the yield of fodder crops. However, the currently dominant practice of chemicalization is carried out with a limited set of biologically significant elements, which creates an imbalance in the composition of soil and plants with a subsequent negative effect on the health and productivity of animals. At the same time, the pathogenetic effect is probably due to a change in metabolic processes against the background of an excess or deficiency of biologically active substances, in particular minerals, as well as the accumulation of toxic products of impaired metabolism and some elements, the level of which is increased in plants, and they are already anthropogenic toxicants.

REFERENCES

1. *Plaksin I. E., Plaksin S. I., & Trifanov A. V.* (2022). Trends and prospects for the development of pig breeding in Russia. *AgroEcoEngineeriya (AgroEcoEngineering)*. — No.1 (110). — p.155—168
2. *Pavlova S. V., Kozlova N. A., Shchavlikova T. N.* Indicators of the work of breeding and genetic centers to improve the reproductive, fattening and meat qualities of pigs. *Effektivnoe zhitovnovodstvo (Efficient animal husbandry)*. —2021. No. 8 (174). — p.102—106
3. *Tikhomirov A. I.* Introduction of modern breeding achievements in pig breeding is a key factor in the modernization of the industry / A. I. Tikhomirov // *Vestnik Vserossiyskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta mekhanizatsii zhitovnovodstva (Bulletin of All-Russian Scientific Research Institute of Livestock Mechanization)*. — 2017. — No. 3(27). — P. 15—22. — EDN ZMJMEH.
4. *N. V. Syrchina, L. V. Pilip, G. Ya. Kantor, & T. Ya. Ashikhmina* (2023). Effect of organic fertilizers and natural ameliorants on the mobility of manganese in the soil. *Problemy regionalnoy ekologii (Problems of regional ecology)*. — No. 1. — p.5—9
5. *Elsukova E. Yu., Nedbaev I. S., Kuzmina D. S.* (2022). Soil pollution in the area affected by the production of phosphate fertilizers. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Nauki o Zemle. (Bulletin of St. Petersburg University. Earth Sciences)*. No. 67 (4). — p. 652—674
6. *Zheysheva A. N., Zhukov V. V.* (2020). Assessment of the environmental risk to the health of the population living in Saratov region under the effect of heavy metal compounds on food products. *Byulleten meditsinskikh internet-konferentsiy (Bulletin of Medical Internet Conferences)*. — No. 10 (1). p. 6.
7. *Prokina L. N.* (2018). Effect of chemicals on the nutritional value of perennial grasses in the field crop rotation. *Mezhdunarodnyy selskokhozyaystvennyy zhurnal (International Agricultural Journal)*. — No. 6. — p.56—59.
8. *Motovilov K. Ya.* Expertise of feed and feed additives / K. Ya. Motovilov [et al.]. — Novosibirsk: Sib. univ. publishing house, 2004. — 303 p.;
9. *Petukhova E. A.* Zootechnical analysis of feed / E. A. Petukhova, R. F. Bessarabova, L. D. Khaleneva, et al. — M.: Kolos, 2014. — 256 p.
10. *Kosolapov V. M., Chuykov V. A., Khudyakova Kh. K., Kosolapova V. G.* Mineral elements in feed and methods of their analysis: monograph. — Moscow: Ugresh Printing House LLC, 2019. — 272 p.
11. *Alekhin Yu.N.* Endogenous intoxications in animals and their diagnosis. Methodical recommendations. Voronezh: GNU VNIVIPFIT (SSI ARVRIPP&T), 2000, 12 p.
12. *Korobeynikova E. N.* Modification of determination of lipid peroxidation products in reaction with TBA. *Laboratornoe delo (Laboratory science)*, 1989, 7: 8—9
13. *Osipov A. I.* (2020). Role of fertilizers in soil fertility and plant nutrition. Health is the basis of human potential: problems and ways to solve them. — No.15 (2). — p.874—887.
14. *Plotnikov A. M., Gorbunov M. Yu., Utkin A. V.* (2015). Evaluation criterion for damage to agricultural land with a decrease in the content of soil humus. *Vestnik Kurganskoy GSKhA (Bulletin of Kurgan State Agricultural Academy)*. — No.1 (13). — p. 60—63.
15. *Plotnikov A. M.* (2019). Dependence of the yield of grain crops on the content of available forms of phosphorus and potassium in the soil. *Vestnik Kurganskoy GSKhA (Bulletin of Kurgan State Agricultural Academy)*. — No.1 (29). — p. 17—20.
16. *Loginova I.* Complex relationships between elements: antagonism and synergy // *Spetsialnyy vypusk izdaniy "Agrokimiya-2015" (Special issue of "Agrochemistry-2015" publications)*. — K.: Infoindustry, 2015. — P. 33—37.
17. *Merzlenko R. A., Strelnikov S. A.* Prevention and treatment of fatty liver in pigs. — Belgorod: Politera, 2018. — 111 p.
18. *Kuznetsov V. I., Morrison, V. V., Lisko, O. B., Tsareva, T. D., Sretenskaya, D. A., Gavrilova, I. B., & Khlebozharova O. A.* (2014). Lipids in the structure and functioning of biological membranes. *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal (Saratov Scientific Medical Journal)*, 10 (2), 262—266.
19. *McAninch EA, Bianco AC.* The History and Future of Treatment of Hypothyroidism. *Ann Intern Med.* 2016 Jan 5;164(1):50—6. doi: 10.7326/M15—1799. Erratum in: *Ann Intern Med.* 2016 Mar 1;164(5):376. PMID: 26747302; PMCID: PMC4980994.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

O. S. Popova — Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Pharmacology and Toxicology;

P. A. Parshin — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Director;

Yu. N. Alekhin — Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate of the Department of Experimental Therapy.

The article was submitted 13.07.2023.

Научная статья

УДК 619:[616—08:618.145]:636.2

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2023.3.143

КОМПЛЕКСНЫЙ СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ КОРОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЭНДОМЕТРИТЕ

Валерия Сергеевна Болотова, Виталий Иванович Михалев[✉],
Ольга Алексеевна Манжурина

*Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии,
фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, mikhalevvit@yandex.ru[✉]*

Аннотация. В статье представлены материалы изучения эффективности комплексного способа терапии коров при хроническом эндометрите, предусматривающего применение общестимулирующих (биостимульгин), симптоматических (утеротон) и этиотропных (новый препарат антимикробного действия «ПК»), что обеспечивает повышение терапевтической эффективности на 9,5—17,3 %, при сокращении на 0,48—1,06 числа внутриматочных введений антимикробных средств, продолжительности бесплодия на 11,7—35,3 дней и коэффициента оплодотворения на 0,14—0,26. В процессе комплексного лечения происходит восстановление ригидности матки, уменьшение толщины ее стенки на 75,0 % по сравнению с началом лечения, при отсутствии гнойных включений. Клиническое выздоровление сопровождается снижением микробной обсемененности матки в 7,29 раза, в том числе энтеробактерий в 3,25 раза, что указывает на санацию полости матки. Комплексное лечение хронического эндометрита способствует восстановлению структурно-функциональных свойств покровного эпителия, что проявилось увеличением высоты его эпителиоцитов на 21,1 %. Кроме того у коров этой группы высота эпителиоцитов маточных желез повысилась на 22,4 %, а толщина эндометрия — на 20,5 %, что свидетельствует об активизации его секреторной функции.

Ключевые слова: коровы, хронический эндометрит, комплексная терапия, новый антимикробный препарат «ПК»

Использование репродуктивного потенциала маточного поголовья определяется функционированием многих систем организма, главенствующее значение при этом придается органам воспроизводства. Среди патологий воспроизводительной системы организма огромное значение занимают заболевания матки, в том числе эндометриты. Хронический эндометрит диагностируется у 15,2—31,7 % бесплодных животных [1—3].

Экономические потери от хронического эндометрита по данным Международной молочной ассоциации составляют 250 евро/животное [4].

Хронический эндометрит в большинстве случаев является продолжением острых и подострых форм воспаления эндометрия. При этом в эндометрии диагностируется гиперемия, кровоизлияния, дистрофические процессы эпителиальных клеток, разrost соединительно-тканых элементов, что значительно ухудшает условия для плодотворного осеменения животных [5].

Непосредственной причиной развития воспалительных процессов в эндометрии является разнообразная микрофлора: *E. coli*, *Staph. aureus*, *Staph. epidermidis*, *Staph. pyogenes*, *Str. agalactiae* и др. Терапия коров с хроническим эндометритом основана на применении антимикробных средств, бессистемное применение которых создает предпосылки для развития резистентных штаммов микроорганизмов [6].

Чувствительность микрофлоры, изолированной из маточного содержимого больных хроническим эндометритом коров, имеет тенденцию к снижению [7, 8].

Наибольший эффект при лечении коров с хроническим эндометритом достигается при совместном применении общестимулирующих, миотропных и этиотропных средств. Комплексная терапия направлена на нормализацию обмена веществ в организме и трофики в пораженном органе, коррекцию нервно-мышечного тонуса миометрия и со-

кратительной функции матки, освобождение ее полости от скопившегося экссудата, повышение защитных сил организма и подавление жизнедеятельности микрофлоры, восстановление структуры и функции матки [9—11].

Несмотря на разработанные в последнее время многочисленные антимикробные препараты распространение хронических эндометритов в молочном животноводстве не имеет тенденции к снижению. Поэтому разработка эффективных схем лечения коров с хроническим эндометритом является актуальной задачей.

Цель исследований — определить эффективность комплексного лечения коров при хроническом эндометрите.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследования являлись коровы с диагнозом хронический эндометрит. Диагноз устанавливали по результатам клинических, трансректальных и ультразвуковых исследований в соответствии с «Методическим пособием по профилактике бесплодия у высокопродуктивного молочного скота» (Воронеж, 2010) [12].

Животные после постановки диагноза были разделены по принципу аналогов на три группы. Коровам первой группы ($n = 18$) внутриматочно вводили препарат метрикур согласно инструкции по применению; второй ($n = 20$) — метрикур, а также биостимульгин — в дозе 30,0 мл трижды с 48-часовым интервалом и утеротон — трижды с 24-часовым интервалом в дозе 10,0 мл; третьей группы ($n = 19$) — биостимульгин и утеротон в тех же дозах и в те же сроки, что и животным второй группы, и дополнительно — новый антимикробный препарат «ПК» внутриматочно в дозе 20 мл один раз в день до выздоровления. Клиническую эффективность проведенного лечения оценивали по проценту выздоровевших животных, кратности внутриматочного введения антимикробных препаратов, количеству оплодотворенных животных, периоду от отела до оплодотворения, коэффициенту оплодотворения.

При определении эффективности комплексного лечения учитывали также результаты ультразвуковых исследований (наличие/отсутствие гноя, толщина стенки матки, диаметр полости матки).

От 5—6 коров из каждой группы до и после проведенного комплексного лечения отобраны пробы маточного содержимого для проведения бактериологических исследований.

От коров, подвергавшихся комплексной терапии, для проведения гистологических исследований был отобран биопсийный материал из стенки эндометрия, который фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина, обезжизивали в спиртах, хлороформе и заливали в парафин. Срезы готовили на микротоме МПС-2 толщиной 5—7 мкм, депарафинировали и окрашивали гематоксилин-эозином. Морфометрические исследования образцов стенки матки до и после комплексного лечения проведены по Г. Г. Автандилову (1990) [13].

Полученный цифровой материал подвергали статистической обработке с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Различия считали статистически значимыми при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты клинической эффективности лечения коров при хроническом эндометрите представлены в таблице 1. Установлено, что терапия хронического эндометрита коров с применением метрикура (первая группа) обеспечила клиническое выздоровление 72,2 % животных. Для достижения терапевтического эффекта требуется $3,17 \pm 0,12$ внутриматочных введений препарата. После проведенного лечения оплодотворилось 69,2 % выздоровевших животных в среднем через $110,7 \pm 8,1$ дней. Коэффициент оплодотворения коров, которых подвергали лечению с применением метрикура, составил $2,31 \pm 0,12$.

Более высокие результаты лечения хронического эндометрита получены при комплексной терапии животных (вторая группа), предусматривающей применение общестимулирующих (биостимульгин), миотропных (утеротон) и антимикробных (метрикур) средств. Комплексная схема способствует повышению терапевтической эффективности на 7,8 % по сравнению с использованием одних антимикробных средств, при сокращении на 0,52 ($P < 0,05$) количества внутриматочных введений метрикура. Клиническое выздоровление коров этой группы сопровождалось оплодотворением 75,0 % животных, что на 5,2 % выше, чем при терапии одним метрикуром, при сокращении продолжительности периода от отела до оплодотворения на 23,6 дней ($P < 0,05$) и коэффициента оплодотворения — на 0,12.

Комплексное лечение коров при хроническом эндометрите, предусматривающее применение биостимульгина, утеротона и препарата «ПК» (третья группа), оказалось наиболее эффективным — 89,5 %, что на 9,5 % выше по сравнению с живот-

ными второй группы и на 17,3 % — по сравнению с первой. Для достижения клинического эффекта потребовалось на 0,48 ($P < 0,05$) меньше внутриматочных введений препарата «ПК» по сравнению с животными второй группы и на 1,06 ($P < 0,001$) — по сравнению с первой. После клинического выздо-

рования коров третьей группы оплодотворилось на 13,2—19,0 % больше животных при сокращении продолжительности бесплодия на 11,7—35,3 дней ($P < 0,01$) и коэффициента оплодотворения — на 0,14—0,26 по сравнению с животными первой и второй группы.

Таблица 1

Эффективность комплексного лечения коров при хроническом эндометрите

Показатели	Группы животных		
	первая, $n = 18$	вторая, $n = 20$	третья, $n = 19$
Выздоровело, коров/%	13/72,2	16/80,0	17/89,5
Кратность введения	$3,17 \pm 0,12$	$2,65 \pm 0,15^*$	$2,11 \pm 0,11^{***}$
Оплодотворилось, коров/%	9/69,2	12/75,0	15/88,2
Период от отела до оплодотворения	$110,7 \pm 8,1$	$87,1 \pm 5,2^*$	$75,4 \pm 4,6^{**}$
Коэффициент оплодотворения	$2,31 \pm 0,12$	$2,19 \pm 0,11$	$2,05 \pm 0,11$

* $P < 0,05$

** $P < 0,01$

*** $P < 0,001$ — по сравнению с животными первой группы

Результаты клинической эффективности комплексной терапии коров с хроническим эндоме-

ритом подтверждены эхографическими данными (табл. 2).

Таблица 2

Клинико-эхографические параметры матки коров при комплексном лечении хронического эндометрита

Показатели	До лечения, $n = 57$	После лечения		
		первая группа, $n = 13$	вторая группа, $n = 16$	третья группа, $n = 17$
Расположение матки	Рога матки свисают за край лонного сращения	Тазовая полость	Тазовая полость	Тазовая полость
Увеличение размера матки, раз	1,5—2,0	1,2—1,3	—	—
Консистенция	Упругая	Упруго-эластичная	Упруго-эластичная	Упруго-эластичная
Толщина стенки матки, мм	$9,1 \pm 0,44$	$6,7 \pm 0,31^*$	$6,1 \pm 0,19^{***}$	$5,2 \pm 0,21^{***}$
Размер полости рогов матки, мм	$18,4 \pm 0,91$	$3,9 \pm 0,16^{***}$	—	—
Наличие / отсутствие гноя	+	—	—	—

* $P < 0,05$

*** $P < 0,001$ — по сравнению с началом лечения

Установлено, что терапия коров с хроническим эндометритом с использованием одного метрикура (первая группа) сопровождается уменьшением размера матки (которая после окончания лечения все еще увеличена в 1,2—1,3 раза), приобретением ей упруго-эластичной консистенции, отсутствием гноя в полости матки. При клиническом выздоровлении коров размер полости рогов матки уменьшается в 4,7 раза ($P < 0,001$) по сравнению с началом лечения, а толщина стенки матки — на 35,8 % ($P < 0,05$).

Комплексное лечение коров, которым в качестве этиотропного средства применяли метрикур (вторая группа), сопровождается восстановлением размеров матки, отсутствием полости в ее рогах, уменьшением толщины стенки матки на 49,2 %

($P < 0,001$) по сравнению с началом терапевтического курса.

Терапия коров с хроническим эндометритом, предусматривающая применение общестимулирующих, миотропных и этиотропных (препарат «ПК») средств (третья группа) приводит к восстановлению анатомо-топографических характеристик матки, ригидности, уменьшению толщины стенки матки на 75,0 % ($P < 0,001$), отсутствию гнойных включений по сравнению с началом лечения.

Клиническая эффективность комплексного способа лечения коров с хроническим эндометритом подтверждена результатами бактериологических исследований экссудата, представленными в таблице 3.

Таблица 3

Результаты бактериологических исследований экссудата коров при комплексной терапии хронического эндометрита

Показатели	До лечения	После лечения		
		первая группа, <i>n</i> = 6	вторая группа, <i>n</i> = 5	третья группа <i>n</i> = 5
Степень микробной контаминации, КОЕ/мл	3219,5 ± 129,3	987,4 ± 67,3***	684,2 ± 52,7***	441,9 ± 37,2***
Энтеробактерии, %/lgКОЕ/мл	80,0/3,9 ± 0,21	50,0/1,9 ± 0,11***	40,0/1,4 ± 0,09***	20,0/1,2 ± 0,07***
Бифидобактерии, %/lgКОЕ/мл	40,0/1,7 ± 0,11	50,0/2,1 ± 0,14	60,0/2,4 ± 0,19**	60,0/2,6 ± 0,12***
Лактобактерии, %/lgКОЕ/мл	40,0/1,8 ± 0,13	50,0/2,0 ± 0,11	60,0/2,2 ± 0,14*	60,0/2,4 ± 0,15**
Видовой состав микрофлоры, %				
Staph. aureus	40,0	33,3	20,0	0,0
Staph. epidermidis	10,0	0,0	20,0	40,0
Str. agalactiae	10,0	16,7	0,0	0,0
E. coli	20,0	16,7	0,0	0,0
Ent. faecalis	20,0	33,3	20,0	20,0
Ent. faecium	0,0	0,0	40,0	40,0
Микроскопические дрожжеподобные грибы, %	60,0	50,0	40,0	20,0

* $P < 0,05$

** $P < 0,01$

*** $P < 0,001$ — по сравнению с началом лечения

Установлено, что применение одного антимикробного средства метрикура (первая группа) способствовало снижению степени микробной контаминации в 3,26 раза ($P < 0,001$), в том числе энтеробактерий — в 2,05 раза ($P < 0,001$). После проведенного терапевтического курса из маточного

содержимого изолирована следующая микрофлора: Staph. aureus — 33,3 %, Str. agalactiae — 16,7 %, E. coli — 16,7 %, Ent. faecalis — 33,3 %.

Совместное применение метрикура со средствами общестимулирующей и симптоматической терапии (вторая группа) при хроническом эндоме-

трите способствовало снижению микробной контаминации матки в 4,71 раза ($P < 0,001$), энтеробактерий — в 2,79 раза ($P < 0,001$), при повышении бифидобактерий в 1,41 раза ($P < 0,01$) и лактобактерий — в 1,22 раза ($P < 0,05$). У клинически здоровых коров после завершения терапевтического курса маточное содержимое было контаминировано *Staph. aureus* — 20,0 %, *Staph. epidermidis* — 20,0 %, *Ent. faecalis* — 20,0 %, *Ent. faecium* — 40,0 %. Кроме того из маточного содержимого коров этой группы по завершении терапевтического курса изолированы дрожжеподобные грибы в 40,0 % случаев.

Комплексная терапия коров (третья группа) с применением биостимульгина, утеротона и препарата «ПК» обеспечила снижение степе-

ни микробной контаминации матки в 7,29 раза ($P < 0,001$), в том числе энтеробактерий в 3,25 раза ($P < 0,001$). Клиническое выздоровление коров этой группы происходило на фоне повышения в содержимом матки уровня бифидо- и лактобактерий в 1,53 ($P < 0,001$) и 1,33 ($P < 0,01$) раза соответственно. Микрофлора маточного содержимого по окончании лечения представлена *Staph. epidermidis* — 40,0 %, *Ent. faecalis* — 20,0 % и *Ent. faecium* — 40,0 %, что свидетельствует о санации полости матки.

Комплексная терапия коров с хроническим эндометритом также способствовала восстановлению структурной организации эндометрия. Результаты морфометрических исследований эндометрия представлены на рисунке 1.

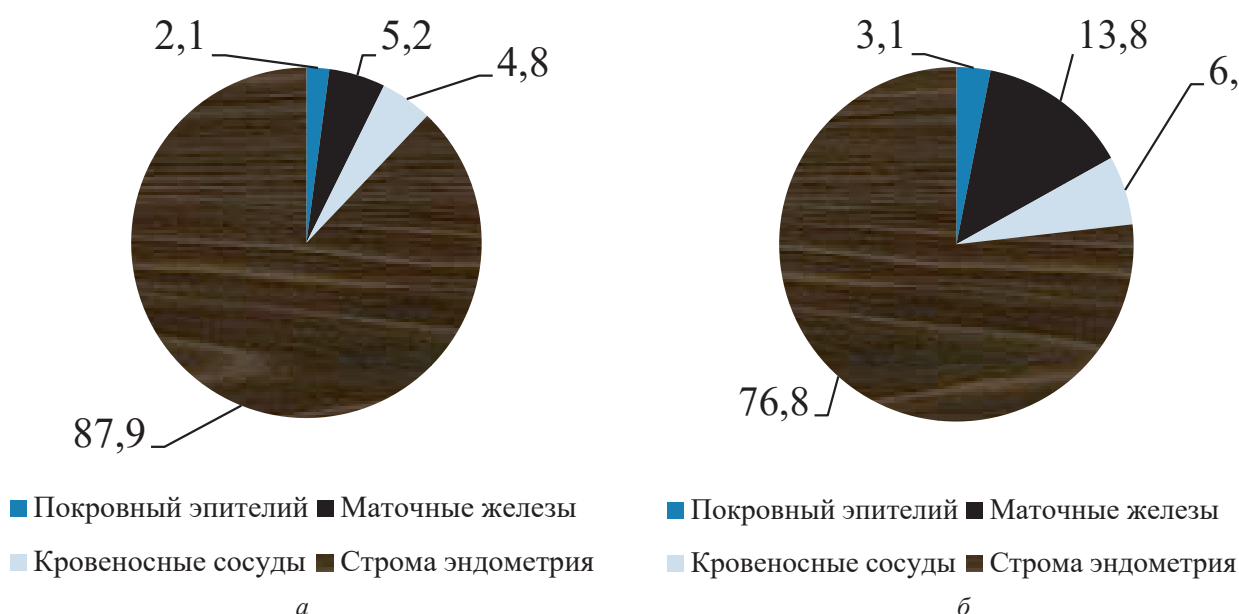


Рис. 1. Структурная характеристика эндометрия коров при комплексном лечении хронического эндометрита, %:

а — до лечения; б — после комплексной терапии хронического эндометрита

Установлено, что в процессе комплексного лечения коров (вторая группа) произошло повышение процентной доли покровного эпителия в 1,47 раза, маточных желез — в 2,65 раза, кровеносных сосудов — в 1,31 раза, что обеспечило восстановление функциональных свойств эндометрия.

Результаты планиметрических исследований эндометрия при комплексной терапии коров при хроническом эндометрите представлены на рисунке 2.

Установлено, что клиническое выздоровление коров на фоне применения биостимульгина, утеротона и препарата «ПК» способствовало восстанов-

лению структурно-функциональных свойств покровного эпителия, что проявилось увеличением высоты его эпителиоцитов на 21,1 %. Кроме того, у коров этой группы высота эпителиоцитов маточных желез повысилась на 22,4 %, а толщина эндометрия — на 20,5 %, свидетельствующее об активизации его секреторной функции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, комплексное лечение коров при хроническом эндометрите, предусматривающее применение общестимулирующих (биостимульгин), симптоматических (утеротон) и этиотропных

(препарат «ПК») средств обеспечивает повышение терапевтической эффективности на 9,5—17,3 %, при сокращении на 0,48—1,06 числа внутриматочных введений антимикробных средств, продолжительности бесплодия на 11,7—35,3 дней и коэффициента оплодотворения на 0,14—0,26. В процессе комплексного лечения происходит восстановление

ригидности матки, уменьшение толщины ее стенки на 75,0 % по сравнению с началом лечения, при отсутствии гнойных включений. Клиническое выздоровление сопровождается снижением микробной обсемененности матки в 7,29 раза, свидетельствующее о санации полости матки, а также восстановлением структурной организации эндометрия.

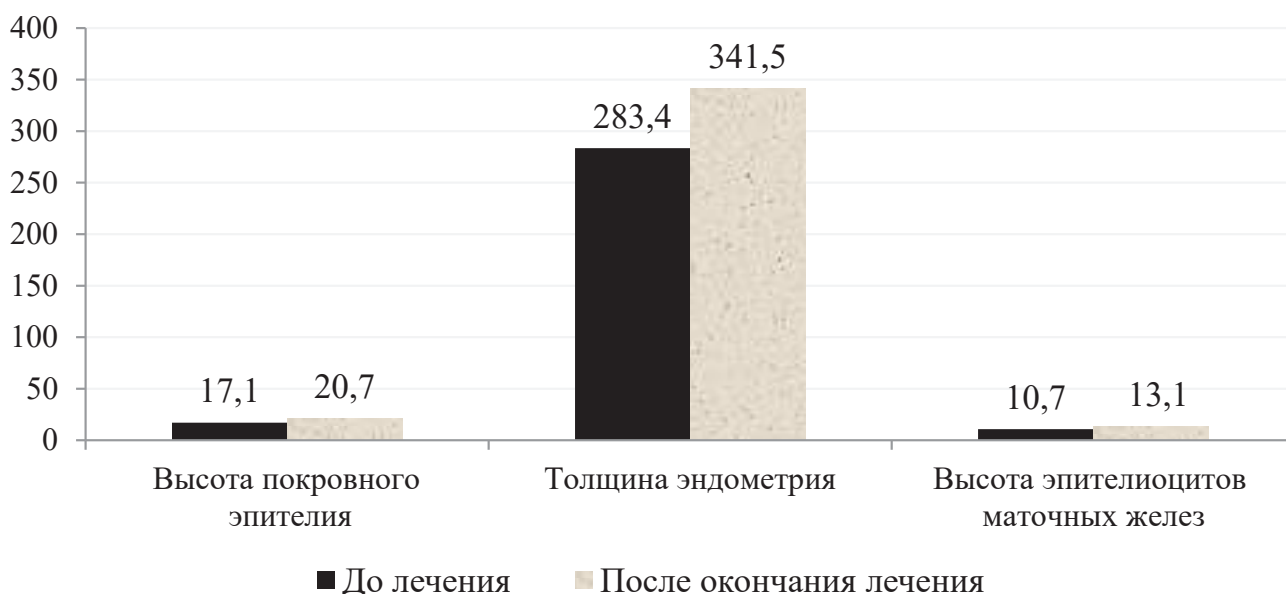


Рис. 2. Планиметрические параметры эндометрия коров при комплексном лечении хронического эндометрита, мкм

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Вареников М. В. Эффективность применения лазеротерапии при хроническом эндометрите у коров / М. В. Вареников, А. М. Чомаев, А. Н. Хисметов // Научные труды ВИЖа / Всерос. гос. науч.-исслед. ин-т животноводства. — Дубровицы, 2004. — 62. — т. 3. — С. 143—147.
2. Карташов С. Н. Гормональные нарушения в этиологии хронических эндометритов у коров / С. Н. Карташов, Р. В. Клименко, Е. В. Карташова, К. И. Грибов // Ветеринария и кормление. — № 4. — 2010. — С. 22—30.
3. Сковородин Е. Н. Патолого-гистологические изменения при хронических эндометритах у коров / Е. Н. Сковородин; С. В. Кулемин // Молодые ученые — возрождению сел. хоз-ва России в XXI веке. — Брянск, 2000. — С. 191—193.
4. Дубовикова М. С. Фармакотерапия хронического неспецифического эндометрита у коров / М. С. Дубовикова: Автореф. дис. ... канд. вет. наук. — Краснодар, 2017. — 18 с.
5. Кухаренко Н. С. Патологоанатомическая диагностика незаразных болезней животных / Н. С. Кухаренко, Е. В. Курятова // Метод. пособие. — Благовещенск: ДальГАУ, 2003. — 112 с.
6. Забровская А. В. Чувствительность к антимикробным препаратам микроорганизмов, выделенных от сельскохозяйственных животных и из продукции животноводства / А. В. Забровская // Farm Animals. — 2013. — № 1. — С. 78—83.
7. Васильева Ю. В. Применение сапропелей для диагностики, лечения и профилактики эндометритов у коров / Ю. В. Васильева: автореф. дис. ... канд. вет. наук. — Смоленск, 2003. — 20 с.
8. Sheldon I. M. Mechanisms of infertility associated with clinical and subclinical endometritis in high producing dairy cattle / I. M. Sheldon, S. B. Price, J. Cronin, R. O. Gilbert, J. E. Gadsby // Reproduction in Domestic Animals. — 2009. — V. 44. — P. 1—9.
9. Турченко А. Н. Этиология и лечение послеродового эндометрита коров / А. Н. Турченко // Ветеринария. — 2001. — № 7. — С. 35—37.
10. Потий К. В. Применение комплексного препарата на основе хлоргексидина для лечения эндометритов у коров / К. В. Потий, В. И. Плешакова, Н. А. Лещева // Вестник КрасГАУ. — 2020. — № 4. — С. 126—131.
11. Михалев В. И. Терапия хронического эндометрита у коров с применением рекомбинантных интерферонов / В. И. Михалев, В. Н. Скориков, Л. Ю. Сашнина,

В. И. Моргунова // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2022. — № 3 (20). — С. 57—67.

12. Методическое пособие по профилактике бесплодия у высокопродуктивного молочного скота / Под. ред.

А. Г. Нежданова, С. В. Шабунина, Ю. Н. Алехина и др. — Воронеж, 2010. — 54 с.

13. *Автандилов Г. Г.* Медицинская морфометрия / Г. Г. Автандилов // Руководство. — М.: Медицина, 1990. — 384 с.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

В. С. Болотова — младший научный сотрудник;

В. И. Михалев — доктор ветеринарных наук, заведующий сектором;

О. А. Манжурина — кандидат ветеринарных наук, заведующая лабораторией.

Статья поступила в редакцию 19.06.2023 г.

Original article

UDC 619:[616—08:618.145]:636.2

COMPLEX METHOD FOR THE TREATMENT OF THE COWS WITH CHRONIC ENDOMETRITIS

Valeriya Sergeevna Bolotova, Vitaliy Ivanovich Mikhalev✉, Olga Alekseevna Manzhurina

All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia, mikhalev-vit@yandex.ru✉

Abstract. The article presents the material for studying the efficacy of a complex method for the treatment of the cows with chronic endometritis, which involves the use of general stimulants (biostimulgin), symptomatic (uteroton) and etiotropic (new antimicrobial drug “PK”) agents, which provides an increase in therapeutic efficacy by 9.5—17.3 %, with a reduction by 0.48—1.06 in the number of intrauterine injections of antimicrobial agents, the duration of infertility by 11.7—35.3 days and the fertilization rate — by 0.14—0.26. In the process of complex treatment, the rigidity of the uterus is restored, the thickness of its wall is reduced by 75.0 %, compared with the treatment onset, in the absence of purulent inclusions. Clinical recovery is accompanied by a decrease in the microbial contamination of the uterus by 7.29 times, including enterobacteria — by 3.25 times, which indicates the sanitation of the uterine cavity. The complex treatment of chronic endometritis helps to restore the structural and functional properties of the integumentary epithelium, which was manifested by an increase in the height of its epithelial cells by 21.1 %. In addition, in the cows of this group, the height of epithelial cells of the uterine glands has increased by 22.4 %, and the thickness of the endometrium — by 20.5 %, which indicates the activation of its secretory function.

Keywords: cows, chronic endometritis, complex therapy, new antimicrobial drug “PK”

The use of the reproductive potential of the breeding stock is determined by the functioning of many body systems, while the reproductive organs are of paramount importance.

Among the pathologies of the reproductive system of the body, uterine diseases, including endometritis, are of great significance. Chronic endometritis is diagnosed in 15.2—31.7 % of infertile animals [1—3].

Economic losses from chronic endometritis, according to the International Dairy Association, amount to 250 EUR/animal [4].

Chronic endometritis in most cases is a continuation of acute and subacute forms of inflammation of the endometrium. At the same time, hyperemia, hemorrhages, dystrophic processes of epithelial cells, growth of connective tissue elements are diagnosed in the endometrium, which significantly worsens the conditions for successful insemination of animals [5].

The direct cause of the inflammatory processes development in the endometrium is a diverse microflora: *E. coli*, *Staph. aureus*, *Staph. epidermidis*, *Staph. pyogenes*, *Str. agalactiae* and others. The therapy of the cows with chronic endometritis is based on the use of antimicrobial agents, the unsystematic use of which

creates the prerequisites for the development of resistant strains of microorganisms [6]. The sensitivity of the microflora isolated from the uterine contents of cows with chronic endometritis tends to decrease [7, 8].

The greatest effect in the treatment of the cows with chronic endometritis is achieved with the combined use of general stimulating, myotropic and etiotropic agents. Complex therapy is aimed at normalizing the metabolism in the body and trophism in the affected organ, correcting the neuromuscular tone of the myometrium and the contractile function of the uterus, freeing its cavity from accumulated exudate, increasing the body's defenses and suppressing the vital activity of the microflora, restoring the structure and uterine function [9—11].

Despite the recent development of numerous antimicrobial agents, the prevalence of chronic endometritis in dairy farming does not tend to decrease. Therefore, the development of effective treatment regimens for cows with chronic endometritis is an urgent task.

The objective of the research is to determine the efficacy of the complex treatment of the cows with chronic endometritis.

MATERIAL AND METHODS

The object of the study were cows diagnosed with chronic endometritis. The diagnosis was established on the basis of the results of clinical, transrectal and ultrasound studies in accordance with the Methodical Guide for the Prevention of Infertility in High Yielding Dairy Cattle (Voronezh, 2010) [12]. The animals after diagnosis were divided into three groups according to the principle of analogues. The cows of the first group ($n = 18$) were intrauterine injected with metricure according to the instructions for use; the second ($n = 20$) — metricure, as well as biostimulgin — at a dose of 30.0 ml three times with a 48-hour interval and uteroton — three times at a dose of 10.0 ml with a 24-hour interval; the third group ($n = 19$) — biostimulgin and uteroton at the same doses and at the same time as the animals of the second group, and additionally — a new antimicrobial drug “PK” was injected intrauterine at a dose of 20 ml once a day until convalescence. The clinical efficacy of the treatment was assessed by the percentage of recovered animals, the frequency of intrauterine administration of antimicrobial drugs, the number of fertilized animals, the period from calving to fertilization, and the fertilization rate.

When determining the efficacy of the complex treatment, the results of ultrasound examinations (presence / absence of pus, thickness of the uterine wall, diameter of the uterine cavity) were also taken into account.

From 5—6 cows from each group, before and after complex treatment, the samples of the uterine contents were taken for bacteriological studies.

From the cows undergoing the complex therapy, biopsy material was taken from the endometrial wall for histological studies and was fixed in a 10 % solution of neutral formalin, dehydrated in alcohols, chloroform and embedded in paraffin. Sections of 5—7 μm thick were prepared on an MPS-2 microtome, deparaffinized and stained with hematoxylin-eosin. Morphometric studies of uterine wall samples before and after complex treatment were carried out according to G. G. Avtandilov (1990) [13].

The resulting digital material was subjected to statistical processing using the Statistica 6.0 software package. The differences were considered statistically significant at $P < 0.05$.

STUDY RESULTS

The results of the clinical efficacy of treatment of the cows with chronic endometritis are presented in Table 1. It was found that the treatment of chronic endometritis of the cows with the use of metricure (the first group) ensured the clinical recovery of 72.2 % of the animals. To achieve a therapeutic effect, 3.17 ± 0.12 intrauterine injections of the drug are required. After treatment, 69.2 % of recovered animals were fertilized in 110.7 ± 8.1 days. The fertilization rate of the cows treated with metricure was 2.31 ± 0.12 .

Table 1

Efficacy of the complex treatment of the cows with chronic endometritis

Indicators	Groups of animals		
	the first, $n = 18$	the second, $n = 20$	the third, $n = 19$
Recovered, cows/%	13/72.2	16/80.0	17/89.5
Frequency of administration	3.17 ± 0.12	$2.65 \pm 0.15^*$	$2.11 \pm 0.11^{***}$
Fertilized, cows/%	9/69.2	12/75.0	15/88.2
Period from calving to fertilization	110.7 ± 8.1	$87.1 \pm 5.2^*$	$75.4 \pm 4.6^{**}$
Fertilization rate	2.31 ± 0.12	2.19 ± 0.11	2.05 ± 0.11

* $P < 0.05$

** $P < 0.01$

*** $P < 0.001$ — compared with the animals of the first group

Better results in the treatment of chronic endometritis have been obtained with the complex therapy of animals (second group), which includes the use

of general stimulants (biostimulgin), myotropic (uteroton) and antimicrobial (metricure) agents. The complex scheme promotes an increase in the therapeutic

efficacy by 7.8 %, compared with the use of antimicrobial agents alone, with a reduction of 0.52 ($P < 0.05$) in the number of intrauterine injections of metricure. The clinical recovery of the cows in this group was accompanied by the fertilization of 75.0 % of the animals, which was by 5.2 % higher than with only metricure therapy, with a reduction in the duration of the period from calving to fertilization by 23.6 days ($P < 0.05$) and the fertilization rate — by 0.12.

Comprehensive treatment of the cows with chronic endometritis, involving the use of biostimulgin, uteroton and the drug “PK” (third group), turned out to be the most effective — 89.5 %, which was by 9.5 % higher, compared with the animals of the second group and

by 17.3 %, compared with the first one. To achieve a clinical effect, it took by 0.48 ($P < 0.05$) less intrauterine injections of the drug “PK”, compared with the animals of the second group and by 1.06 ($P < 0.001$), compared with the first one.

After the clinical recovery of the cows of the third group, by 13.2—19.0 % more animals were fertilized with a reduction in the duration of infertility by 11.7—35.3 days ($P < 0.01$) and the fertilization rate — by 0.14—0.26, compared with the animals of the first and second groups.

The results of the clinical efficacy of the complex therapy for the cows with chronic endometritis are confirmed by echographic data (Table 2).

Table 2

Clinical and echographic indicators of the uterus of cows in case of the complex treatment of chronic endometritis

Indicators	Before treatment, <i>n</i> = 57	After treatment		
		the first group <i>n</i> = 13	the second group, <i>n</i> = 16	the third group, <i>n</i> = 17
Location of the uterus	Uterine horns hang over the edge of the floor of pelvis	Pelvic cavity	Pelvic cavity	Pelvic cavity
Increase in the uterus size, times	1.5—2.0	1.2—1.3	—	—
Consistency	Elastic	Viscoelastic	Viscoelastic	Viscoelastic
Thickness of the wall of the uterus, mm	9.1 ± 0.44	6.7 ± 0.31*	6.1 ± 0.19***	5.2 ± 0.21***
Size of the cavity of the uterine horns, mm	18.4 ± 0.91	3.9 ± 0.16***	—	—
Presence/absence of pus	+	—	—	—

* $P < 0.05$

*** $P < 0.001$ — compared with the treatment onset

It has been established that the therapy of the cows with chronic endometritis using only metricure (the first group) is accompanied by a decrease in the size of the uterus (which after the end of treatment is still increased by 1.2—1.3 times), the acquisition of a viscoelastic consistency, and the absence of pus in the uterine cavity. With clinical recovery of cows, the size of the cavity of the uterine horns decreases by 4.7 times ($P < 0.001$), compared with the treatment onset, and the thickness of the uterine wall decreases by 35.8 % ($P < 0.05$). Complex treatment of the cows treated with metricure as an etiotropic agent (the second group) is

accompanied by the restoration of the uterus size, the absence of a cavity in its horns and a decrease in the thickness of the uterine wall by 49.2 % ($P < 0.001$), compared with the therapeutic course onset.

The therapy of the cows with chronic endometritis, involving the use of general stimulating, myotropic and etiotropic (the drug “PK”) agents (the third group) leads to the restoration of the anatomical and topographic characteristics of the uterus, rigidity and a decrease in the thickness of the uterine wall by 75.0 % ($P < 0.001$), the absence of purulent inclusions, compared with the treatment onset.

The clinical efficacy of the complex method for the treatment of the cows with chronic endometritis is

confirmed by the results of bacteriological studies of the exudate presented in Table 3.

Table 3

Results of bacteriological studies of cows' exudate in case of complex therapy of chronic endometritis

Indicators	Before treatment	After treatment		
		the first group, n = 6	the second group, n = 5	the third group, n = 5
Degree of microbial contamination, CFU/ml	3219.5 ± 129.3	987.4 ± 67.3***	684.2 ± 52.7***	441.9 ± 37.2***
Enterobacteria, %/lgCFU/ml	80.0/3,9 ± 0.21	50.0/1.9 ± 0.11***	40.0/1.4 ± 0.09***	20.0/1.2 ± 0.07***
Bifidobacteria, %/lgCFU/ml	40.0/1,7 ± 0.11	50.0/2.1 ± 0.14	60.0/2.4 ± 0.19**	60.0/2.6 ± 0.12***
Lactobacteria, %/lgCFU/ml	40.0/1,8 ± 0.13	50.0/2.0 ± 0.11	60.0/2.2 ± 0.14*	60.0/2.4 ± 0.15**
Species composition of microflora, %				
Staph. aureus	40.0	33.3	20.0	0.0
Staph. epidermidis	10.0	0.0	20.0	40.0
Str. agalactiae	10.0	16.7	0.0	0.0
E. coli	20.0	16.7	0.0	0.0
Ent. faecalis	20.0	33.3	20.0	20.0
Ent. faecium	0.0	0.0	40.0	40.0
Microscopic yeast-like fungi, %	60.0	50.0	40.0	20.0

* $P < 0.05$

** $P < 0.01$

*** $P < 0.001$ — compared with the treatment onset

It was established that the use of one antimicrobial agent metricure (the first group) contributed to a decrease in the degree of microbial contamination by 3.26 times ($P < 0.001$), including enterobacteria — by 2.05 times ($P < 0.001$). After the therapeutic course, the following microflora was isolated from the uterine contents: Staph. aureus — 33.3 %, Str. agalactiae — 16.7 %, E. coli — 16.7 %, Ent. faecalis — 33.3 %.

The combined use of metricure with general stimulating and symptomatic therapy (the second group) in case of chronic endometritis contributed to a decrease in microbial contamination of the uterus by 4.71 times ($P < 0.001$), enterobacteria — by 2.79 times ($P < 0.001$), with an increase in bifidobacteria by 1.41 times ($P < 0.01$) and lactobacteria — by 1.22 times ($P < 0.05$). In clinically healthy cows, after the therapeutic course completion, the uterine contents were contaminated with Staph. aureus — 20.0 %, Staph. epidermidis — 20.0 %, Ent. faecalis — 20.0 %, Ent. faecium — 40.0 %.

In addition, yeast-like fungi were isolated from the uterine contents of the cows of this group at the end of the therapeutic course in 40.0 % of cases.

The complex therapy of cows (the third group) with the use of biostimulgin, uteroton and the drug “PK” provided a decrease in the degree of microbial contamination of the uterus by 7.29 times ($P < 0.001$), including enterobacteria — by 3.25 times ($P < 0.001$). Clinical recovery of the cows in this group occurred against the background of an increase in the contents of the uterus of the level of bifido- and lactobacteria by 1.53 ($P < 0.001$) and 1.33 ($P < 0.01$) times, respectively. The microflora of the uterine contents at the end of treatment is represented by Staph. epidermidis — 40.0 %, Ent. faecalis — 20.0 % and Ent. faecium — 40.0 %, which indicates the sanitation of the uterine cavity.

The complex therapy of the cows with chronic endometritis also contributed to the restoration of the structural organization of the endometrium. The results of morphometric studies of the endometrium are shown in Fig. 1.

It had been established that in the process of complex treatment of cows (the second group) there was an increase in the percentage of the integumentary epithelium by 1.47 times, uterine glands — by 2.65

times, blood vessels — by 1.31 times, which ensured the restoration of the functional properties of the endometrium.

It was established that the clinical recovery of cows against the background of the use of biostimulgin, uteroton and the drug “PK” contributed to the restoration of the structural and functional properties of the integumentary epithelium, which was manifested by an in-

crease in the height of its epitheliocytes by 21.1 %. In addition, in the cows of this group, the height of epithelial cells of the uterine glands increased by 22.4 %, and the thickness of the endometrium — by 20.5 %, indicating the activation of its secretory function.

The results of planimetric studies of the endometrium in the complex therapy of the cows with chronic endometritis are shown in Fig. 2.

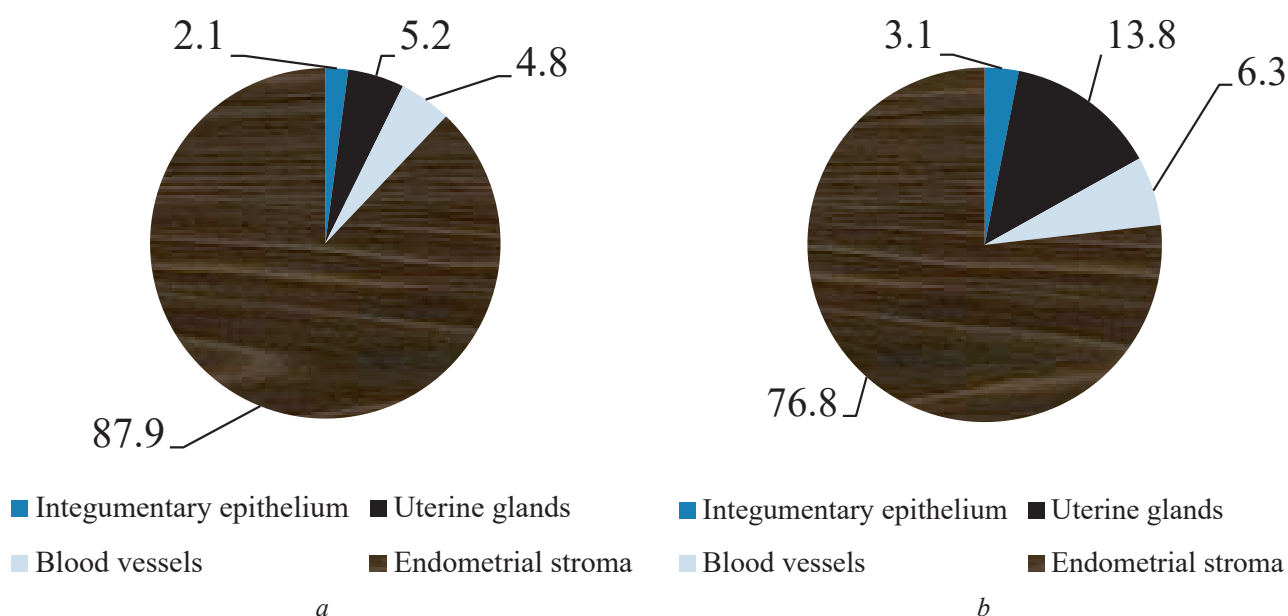


Fig. 1. Structural characteristics of the endometrium of cows in case of the complex treatment of chronic endometritis, %:

a — before treatment; *b* — after complex therapy of chronic endometritis

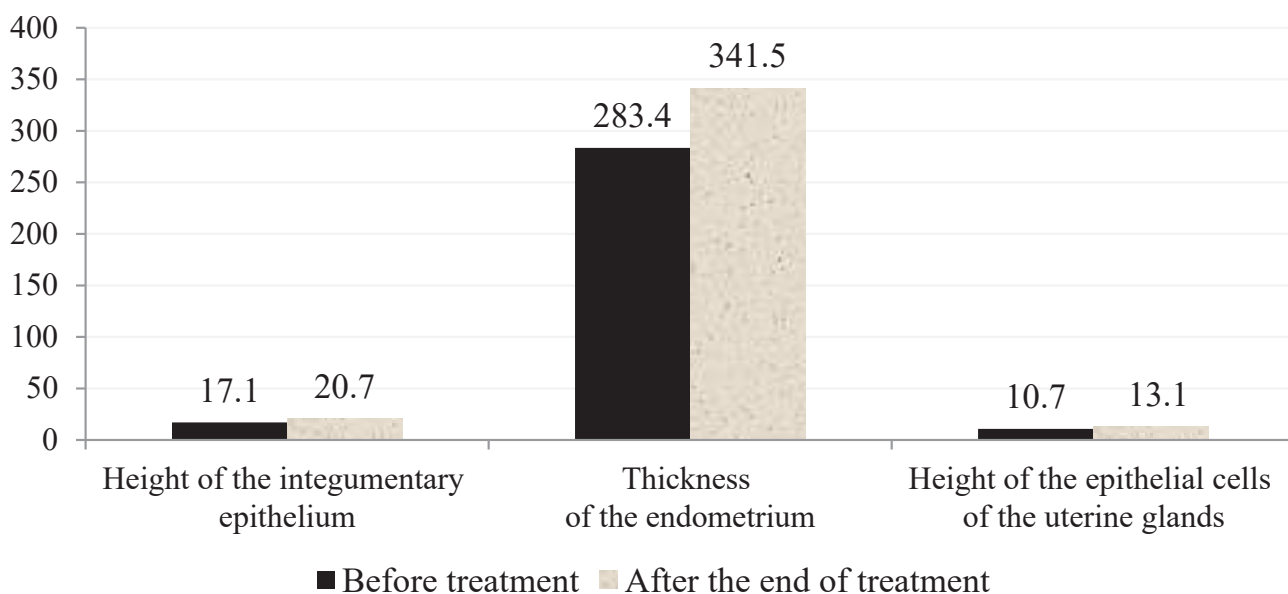


Fig. 2. Planimetric parameters of the endometrium of cows in case of the complex treatment of chronic endometritis, mm

CONCLUSION

Thus, the complex treatment of the cows with chronic endometritis, which involves the use of general stimulants (biostimulgin), symptomatic (uteroton) and etiotropic (the drug "PK") agents, provides an increase in therapeutic efficacy by 9.5—17.3 %, while reducing the number of intrauterine injections of antimicrobial agents by 0.48—1.06, the duration of infertility — by 11.7—35.3 days and the fertilization rate — by 0.14—0.26. In the process of complex treatment, the rigidity of the uterus is restored, the thickness of its wall is reduced by 75.0 %, compared with the treatment onset, in the absence of purulent inclusions.

Clinical recovery is accompanied by a decrease in the microbial contamination of the uterus by 7.29 times, indicating the sanitation of the uterine cavity, as well as the restoration of the structural organization of the endometrium.

REFERENCES

1. *Varenikov M. V.* Efficacy of laser therapy in case of chronic endometritis in cows / M. V. Varenikov, A. M. Chomaev, A. N. Khismetov // Scientific works of VIZh / All-Russian State Scientific-Research Institute of Animal Husbandry. — Dubrovitsy, 2004. — 62. — v. 3. — P. 143—147.
2. *Kartashov S. N.* Hormonal disorders in the etiology of chronic endometritis in cows / S. N. Kartashov, R. V. Klimenko, E. V. Kartashova, K. I. Gribov // Veterinariya i kormlenie (Veterinary medicine and feeding). — No. 4. — 2010. — P. 22—30.
3. *Skovorodin E. N.* Pathological and histological changes in case of chronic endometritis in cows / E. N. Skovorodin; S. V. Kulemin // Molodye uchenye — vozrozhdeniyu sel. khoz-va Rossii v XXI veke (Young scientists — to the revival of agriculture of Russia in the XXI century). — Bryansk, 2000. — P. 191—193.
4. *Dubovikova M. S.* Pharmacotherapy of chronic non-specific endometritis in cows / M. S. Dubovikova: Abstract of a thesis... Cand. of Vet. Sciences. — Krasnodar, 2017. — 18 p.
5. *Kukhareno N. S.* Pathological anatomical diagnosis of non-communicable animal diseases / N. S. Kukhareno, E. V. Kuryatova // Guidance manual — Blagoveshchensk: Dal-GAU, 2003. — 112 p.
6. *Zabrovskaya A. V.* Antimicrobial sensitivity of microorganisms isolated from farm animals and livestock products / A. V. Zabrovskaya // Farm Animals. — 2013. — No. 1. — P. 78—83.
7. *Vasilyeva, Yu. V.* Use of sapropels for the diagnosis, treatment and prevention of endometritis in cows / Yu. V. Vasilyeva: abstract of a thesis... Cand. of Vet. Sciences. — Smolensk, 2003. — 20 p.
8. *Sheldon I. M.* Mechanisms of infertility associated with clinical and subclinical endometritis in high producing dairy cattle / I. M. Sheldon, S. B. Price, J. Cronin, R. O. Gilbert, J. E. Gadsby // Reproduction in Domestic Animals. — 2009. — V. 44. — P. 1—9.
9. *Turchenko A. N.* Etiology and treatment of postpartum endometritis in cows / A. N. Turchenko // Veterinariya (Veterinary medicine). — 2001. — No. 7. — P. 35—37.
10. *Potiy K. V.* Use of a complex drug based on chlorhexidine for the treatment of endometritis in cows / K. V. Potiy, V. I. Pleshakova, N. A. Leshchev // Bulletin of KrasSAU. — 2020. — No. 4. — P. 126—131.
11. *Mikhalev V. I.* Therapy of chronic endometritis in cows using recombinant interferons / V. I. Mikhalev, V. N. Skorikov, L. Yu. Sashnina, V. I. Morgunova // Bulletin of Veterinary Pharmacology — 2022. — No. 3 (20). — P. 57—67.
12. Methodical guide for the prevention of infertility in high yielding dairy cattle / Under. ed. of A. G. Nezhdanov, S. V. Shabunin, Yu. N. Alekhin et al. — Voronezh, 2010. — 54 p.
13. *Avtandilov G. G.* Medical morphometry / G. G. Avtandilov // Guideline. — M.: Medicine, 1990. — 384 p.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

V. S. Bolotova — Junior Scientific Associate;

V. I. Mikhalev — Doctor of Veterinary Sciences, Head of the Sector;

O. A. Manzhurina — Candidate of Veterinary Sciences, Head of the Laboratory.

The article was submitted 19.06.2023.

УСЛОВИЯ ПУБЛИКАЦИИ И ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ

УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ!

Редакция журнала «Ветеринарный фармакологический вестник» Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии приглашает научных сотрудников, преподавателей вузов, соискателей ученых степеней и практикующих специалистов для публикации результатов экспериментальных исследований, теоретических и обзорных статей, касающихся актуальных вопросов ветеринарной фармакологии.

Цель журнала «Ветеринарный фармакологический вестник» — представление основных направлений развития ветеринарной фармакологии, привлечение внимания научных работников и специалистов к актуальным проблемам, продвижение инновационных разработок.

Основные тематические направления журнала:

1. Экспериментальная фармакология.
2. Клиническая фармакология.
3. Биохимическая и молекулярная фармакология.
4. Фармация.
5. Новые лекарственные средства и препараты для терапии и профилактики болезней.
6. Средства зоогигиены, дезинфекции, дезинсекции и дератизации.
7. Лечебные премиксы и кормовые добавки.
8. Патофизиология, патобиохимия и экспериментальная терапия.

Тематическое содержание журнала может меняться в зависимости от текущих задач науки и практики.

УСЛОВИЯ ПУБЛИКАЦИИ

Авторам необходимо предоставить в редакцию следующие материалы:

1. Статью, оформленную в соответствии с требованиями, на почту vetfarm.journal@yandex.ru («В редакцию журнала «Ветеринарный фармакологический вестник»).

Материал, предлагаемый для публикации, должен быть тщательно **отредактирован и подписан всеми авторами**.

Статьи, направляемые в редакцию, проходят рецензирование и выносятся на рассмотрение редколлегии. При необходимости редакция связывается с авторами по телефону или электронной почте. По результатам обсуждения принимается решение о возможности включения статьи в журнал, об отказе или доработке.

Статья, направленная автору на доработку, должна быть возвращена в исправленном виде в максимально короткие сроки. К рукописи необходимо приложить письмо от авторов, содержащее ответы на все замечания. Статья, требующая повторной доработки, рассматривается как вновь поступившая. При этом датой поступления считается дата получения редакцией окончательного варианта статьи.

Плата с авторов за публикацию не взимается.

Авторское вознаграждение за размещение статей в печатной и электронной версии журнала авторам статей не выплачивается.

Материалы, поступившие в редакцию, авторам не возвращаются.

2. Сведения об авторах:

Фамилия, имя, отчество

Ученая степень

Ученое звание

Должность

Полное название организации

Адрес, телефон, e-mail

Отдельно необходимо указать лицо и его контактные данные, с которым редакция будет вести переговоры и переписку.

3. Направление от учреждения, в котором выполнена работа по форме:

В редакцию журнала «Ветеринарный фармакологический вестник»	
Прошу (просим) опубликовать в открытой печати мою (нашу) статью «_____».	
Материалы статьи частично или полностью не были ранее опубликованы*.	
Авторы подтверждают достоверность и оригинальность материалов, изложенных в статье; дают согласие на сбор, обработку и распространение своих персональных данных в соответствии с требованиями Федерального закона № 152-ФЗ от 27 июля 2006 года «О персональных данных»; гарантируют, что не нарушают ничьих авторских прав; не включают материалы, не подлежащие к публикации в открытой печати в соответствии с действующим законодательством Российской Федерации.	
Вместе со статьей автор передает редакции на неограниченный срок следующие права: право на размещение, воспроизведение и распространение статьи любым способом; право на переработку статьи и внесение изменений в статью; право на публичное использование материалов статьи и демонстрацию их в информационных, рекламных и прочих целях.	
Также авторы подтверждают, что согласны с правилами редакции по подготовке рукописи к изданию. После публикации ее цитирование возможно только со ссылкой на журнал «Ветеринарный фармакологический вестник».	
_____	_____
подпись (подписи) автора (авторов)	фамилия, имя, отчество
Подпись (подписи) _____ заверяю.	

подпись и ФИО лица, заверившего подписи	
М.П. организации	
«__» _____ г.	

* Если были опубликованы частично, то указать название издания, год выпуска, номер, страницы.

Для ускорения публикации статьи в редакцию необходимо предоставить рецензию доктора наук, заверенную в отделе кадров по месту работы.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ

Текст статьи объемом до 15 страниц предоставляется в программе Microsoft Word: шрифт — Times New Roman, кегль — 14 пт, межстрочный интервал — 1,5, абзацный отступ — 1,25, без переносов. Формат страницы — А4; поля: левое — 3 см, верхнее, правое и нижнее — 2 см.

Элементами издательского оформления статей являются:

- сведения об издании, в котором опубликована статья;
- название рубрики или раздела издания;
- тип статьи (научная статья, обзорная статья, редакционная статья, дискуссионная статья, персоналии, редакторская заметка, рецензия на книгу, рецензия на статью, спектакль и т. п., краткое сообщение);
- индекс Универсальной десятичной классификации (УДК);
- цифровой идентификатор объекта (Digital Object Identifier — DOI); его приводят по ГОСТ Р ИСО 26324 и располагают после индекса УДК отдельной строкой слева. В конце DOI точку не ставят;
- заглавие статьи;
- подзаголовочные данные статьи;
- сведения об авторе (авторах);

- аннотация (резюме);
- ключевые слова (словосочетания);
- благодарности;
- знак охраны авторского права;
- перечень затекстовых библиографических ссылок;
- сведения о продолжении или окончании статьи;
- приложение (приложения);
- примечания;
- дата поступления рукописи в редакцию издания, дата одобрения после рецензирования, дата принятия статьи к опубликованию.

Дополнительно могут быть приведены:

- библиографическая запись на статью для дальнейшего цитирования;
- сведения о вкладе каждого автора, если статья имеет несколько авторов;
- указание об отсутствии или наличии конфликта интересов и детализация такого конфликта в случае его наличия.

Слова и словосочетания в элементах издательского оформления статьи не сокращают, кроме сведений об ученой степени и звании автора, слов и словосочетаний в библиографических ссылках и списках по ГОСТ 7.11, ГОСТ Р 7.0.12.

Основной текст статьи может быть структурирован и состоять из следующих частей:

- введение;
- текст статьи (с выделением разделов «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение» и др.);
- заключение.

Допускается деление основного текста статьи на тематические рубрики и подрубрики.

Надписи и подписи к иллюстративному материалу приводят на языке текста статьи и, как правило, повторяют на английском языке. Основной текст статьи в издании может быть только на одном языке. Смешивать в одной статье текст на двух языках не допускается.

До основного текста статьи приводят на языке текста статьи и затем повторяют на английском языке следующие элементы издательского оформления: сведения об издании, в котором опубликована статья, название рубрики или раздела, тип статьи, ее заглавие и подзаголовочные данные, основные сведения об авторе (авторах), аннотацию, ключевые слова, благодарности, библиографическую запись для цитирования. Имена приводят в транслитерированной форме на латинице по ГОСТ 7.79 или в той форме, в какой ее установил автор или редакция издания.

После основного текста статьи приводят на языке текста статьи и затем повторяют на английском языке следующие элементы издательского оформления: дополнительные сведения об авторе (авторах), сведения о вкладе каждого автора, указание об отсутствии или наличии конфликта интересов и детализация такого конфликта в случае его наличия, а также даты поступления рукописи в редакцию, одобрения после рецензирования, принятия статьи к опубликованию.

Основные сведения об авторе содержат:

- имя, отчество, фамилию автора (полностью);
- наименование организации (учреждения), ее подразделения, где работает или учится автор (без обозначения организационно-правовой формы юридического лица: ФГБУН, ФГБОУ ВО, ПАО, АО и т. п.);
- адрес организации (учреждения), ее подразделения, где работает или учится автор (город и страна);
- электронный адрес автора (e-mail);
- открытый идентификатор ученого (Open Researcher and Contributor ID — ORCID) (при наличии). Адрес организации (учреждения), где работает или учится автор, может быть указан в полной форме. Электронный адрес автора приводят без слова «e-mail», после электронного адреса точку не ставят. ORCID приводят в форме электронного адреса в сети Интернет. В конце ORCID точку не ставят. Наименование организации (учреждения), ее адрес, электронный адрес и ORCID автора отделяют друг от друга запятыми.

В случае, когда автор работает (учится) в нескольких организациях (учреждениях), сведения о каждом месте работы (учебы), указывают после имени автора на разных строках и связывают с именем с помощью надстрочных цифровых обозначений.

Если у статьи несколько авторов, то сведения о них приводят с учетом нижеследующих правил. Имена авторов приводят в принятой ими последовательности.

Автор, ответственный за переписку, и его электронный адрес могут быть обозначены условным изображением конверта, в электронных изданиях — также и другими средствами, реализуемыми программным обеспечением публикации издания.

Возможно приведение электронного адреса только одного автора, с которым планируется переписка, или отдельное указание автора для корреспонденции по форме: «Автор, ответственный за переписку:» («Corresponding author:»).

Дополнительные сведения об авторе (авторах) могут содержать:

— полные имена, отчества и фамилии, электронные адреса и ORCID авторов, если они не указаны на первой полосе статьи;

— ученые звания;

— ученые степени;

— другие, кроме ORCID, международные идентификационные номера авторов. Дополнительные сведения об авторе (авторах) приводят с предшествующими словами «Информация об авторе (авторах)» («Information about the author (authors)») и указывают в конце статьи после «Списка источников».

Сведения о месте работы (учебы), электронные адреса, ORCID авторов указывают после имен авторов на разных строках и связывают с именами с помощью надстрочных цифровых обозначений Индекс УДК располагается в левом верхнем углу без абзацного отступа.

Далее без абзацного отступа располагается название статьи — заглавными буквами, полужирным шрифтом, выравнивание по центру.

Фамилия, имя, отчество автора — без абзацного отступа, по центру, строчными буквами, полужирным шрифтом.

Аннотацию формируют по ГОСТ Р 7.0.99. Объем аннотации не превышает 250 слов. Перед аннотацией приводят слово «Аннотация» («Abstract»).

Ключевые слова (словосочетания) должны соответствовать теме статьи и отражать ее предметную, терминологическую область. Не используют обобщенные и многозначные слова, а также словосочетания, содержащие причастные обороты.

Количество ключевых слов (словосочетаний) не должно быть меньше 3 и больше 15 слов (словосочетаний). Их приводят, предваряя словами «Ключевые слова:» («Keywords:»), и отделяют друг от друга запятыми. После ключевых слов точку не ставят.

После ключевых слов приводят слова благодарности организациям (учреждениям), научным руководителям и другим лицам, оказавшим помощь в подготовке статьи, сведения о грантах, финансировании подготовки и публикации статьи, проектах, научно-исследовательских работах, в рамках или по результатам которых опубликована статья.

Эти сведения приводят с предшествующим словом «Благодарности:». На английском языке слова благодарности приводят после ключевых слов на английском языке с предшествующим словом «Acknowledgments:».

Текст статьи должен включать введение (без указания названия раздела), материалы и методы, результаты исследований, обсуждение и выводы (заключение).

Библиографическую запись для пристатейного библиографического списка составляют по ГОСТ 7.80, ГОСТ Р 7.0.100.. Ссылки на источники даются по тексту цифрой в квадратных скобках и указываются в порядке цитирования. В списке литературы желательно наличие как минимум 20 % иностранных источников и включение в список современных авторов.

Таблицы должны быть выполнены в Microsoft Word и содержать статистически обработанный материал. Каждая таблица должна иметь номер, тематический заголовок и ссылку в тексте.

Графики, диаграммы, рисунки и фотографии необходимо предоставлять в формате jpeg, tif или gif (с разрешением не менее 300 точек) с соответствующими подписями и пронумерованными.

Сокращения терминов, отличные от нормированных, должны приводиться только после упоминания в тексте их полного значения.

Единицы измерений даются в соответствии с Международной системой СИ по ГОСТ 8.417—2002 «Единицы величин».

