ISSN 2541-8203

ВЕТЕРИНАРНЫЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

Научно-практический журнал

№ 3 (20) · 2022

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.3

ВЕТЕРИНАРНЫЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

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

УЧРЕДИТЕЛЬ И ИЗДАТЕЛЬ

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»

Федеральная служба по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор) ПИ № ФС 77-69340 от 6 апреля 2017 г.

Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов публикаций. Ответственность за содержание публикаций и достоверность фактов несут авторы материалов. Рукописи не возвращаются. При полной или частичной перепечатке или воспроизведении любым способом ссылка на источник обязательна.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор

Шабунин Сергей Викторович — д-р ветеринар. наук, проф., акад. РАН, научный руководитель ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии терапии», Россия

Заместитель главного редактора

Котарев Вячеслав Иванович — д-р с.-х. наук, проф., зам. директора ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», Россия

Ткачева Юлия Александровна — ответственный секретарь

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Председатель

Шахов Алексей Гаврилович — д-р ветеринар. наук, проф., чл.-кор. РАН, главный научный сотрудник ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», Россия

Члены совета

Абилов Ахмедага Имаш оглы — д-р биол. наук, проф., главный научный сотрудник ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста», Россия

Аристов Александр Васильевич — канд. ветеринар. наук, доц., декан факультета ветеринарной медицины и технологии животноводства ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет имени Петра I», Россия

Востроилова Галина Анатольевна — д-р биол. наук, зам. директора по науке ФГБНУ «ВНИВИПФиТ», Россия

Донник Ирина Михайловна — д-р биол. наук, проф., акад. РАН, вице-президент РАН, Россия

Дорожкин Василий Иванович — д-р биолог. наук, проф., акад. РАН, руководитель Всероссийского научно-исследовательского института ветеринарной санитарии, гигиены и экологии — филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, Россия

Дускаев Галимжан Калиханович — д-р биол. наук, первый заместитель директора, ведущий научный сотрудник Федерального научного центра биологических систем и агротехнологий Российской академии наук (ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН)

Ермакова Татьяна Игоревна — канд. биол. наук, доц., учёный секретарь ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», Россия

Клименко Александр Иванович — д-р с.-х. наук, проф, академик РАН, директор ФГБНУ «Федеральный Ростовский аграрный центр», Россия

Кочиш Иван Иванович — академик РАН, д-р с.-х. наук, проф., заведующий кафедрой зоогигиены и птицеводства МГАВМиБ — МВА имени К. И. Скрябина, Россия

Майканов Балгабай Садепович — д-р биол. наук, проф., проф. кафедры ветеринарной санитарии «Казахского агротехнического университета им. С. Сейфуллина», Республика Казахстан

Оконевски Петр — д-р ветеринар. наук, член PTFARM и EAVPT, Польша

Паршин Павел Андреевич — д-р ветеринар. наук, проф., директор ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии терапии», Россия

Позябин Сергей Владимирович — д-р ветеринар. наук, проф., ректор ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА имени К. И. Скрябина»

Рыпула Кшиштоф — д-р ветеринар. наук, проф., заведующий кафедрой эпидемиологии факультета ветеринарной медицины Вроцлавского университета естественных наук, Польша

Сафонов Владимир Александрович — д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Институт геохимии и аналитической химии им. В. И. Вернадского Российской академии наук (ГЕОХИ РАН)

Стекольников Анатолий Александрович — д-р биол. наук, проф., академик РАН, заведующий кафедрой общей и частной хирургии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», Россия

Чертов Евгений Дмитриевич — д-р техн. наук, проф., заведующий кафедрой ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий», Россия

Ятусевич Антон Иванович — д-р ветеринар. наук, проф., акад. РАН, заведующий кафедрой паразитологии и инвазионных болезней, УО «Витебская ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины», Республика Беларусь

ISSN 2541-8203

© Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, 2022

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

Aristov Aleksandr Vasilyevich — Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Dean of the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Husbandry Technologies, FSBEI HE "Voronezh State Agricultural University named after Emperor Peter the Great", Russia

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

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

Dorozhkin Vasiliy 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 Agrotechnical 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, Wroclaw 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 Anatoliy 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

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

ISSN 2541-8203

© All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, 2022

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: 394 087 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 (20) • 2022

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

Влияние видоспецифичного цитокина ГМ-КСФ на клеточный состав иммунных органов поросят при терапии бактериальной инфекции желудочно-кишечного тракта

Михайлов Е. В., Степанов Д. С., Шабунин Б. В., Степанов Е. М., Сыромятников М. Ю., Шапошникова Ю. В. 8

Животные-продуценты в производстве лечебно-профилактических и диагностических сывороточных препаратов

Свинцов Р. А., Шамин И. В., Абрамова Е. Г., Разживин А. В., Овчинникова М. В., Никифоров А. К. 27

Оценка безопасности препарата для фармакокоррекции теплового стресса у животных

Кузьминова Е. В., Семененко М. П., Сампиев А. М., Семененко К. А., Абрамов А. А., Рудь Е. Н. 48

КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

Терапия хронического эндометрита у коров с применением рекомбинантных интерферонов

Михалев В. И., Скориков В. Н., Сашнина Л. Ю., Моргунова В. И. 57

Фармакопрофилактика послеродового эндометрита у коров с использованием препаратов рекомбинантных интерферонов

Михалев В. И., Сашнина Л. Ю., Моргунова В. И., Ермолова Т. Г. 68

Динамика показателей системы ПОЛ-АОЗ при применении рекомбинантных интерферонов для терапии субклинического мастита у коров
Зимников В. И., Ческидова Л. В., Ермолова Т. Г. 82

Утеротонизирующее действие и эффективность пропранолола гидрохлорида в составе комплексных лекарственных препаратов при терапии послеродовых воспалительных заболеваний у свиноматок
Филатов А. В., Хлопицкий В. П., Минин А. В. 92

СРЕДСТВА ЗООГИГИЕНЫ, ДЕЗИНФЕКЦИИ, ДЕЗИНСЕКЦИИ И ДЕРАТИЗАЦИИ

Влияние кормовых добавок профорт и ликвафид на состояние микрофлоры желудочно-кишечного тракта индеек кросса Хайбрид Конвертер
Котарев В. И., Лядова Л. В., Белоусов Д. А., Большаков В. Н. 103

Мясная продуктивность индеек кросса хайбрид конвертер при введении в рацион пробиотического комплекса «Ликвафид»
Котарев В. И., Лядова Л. В., Белоусов Д. А.. 116

ПАТОФИЗИОЛОГИЯ, ПАТОБИОХИМИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

Клеточный пул тимуса карпа обыкновенного на фоне применения Целлобактерина-Т
Жукова В. В., Михайлов Е. В., Болотова В. С., Шапошникова Ю. В., Шабунин Б. В.. 126

Роль цитокинов в обеспечении физиологического течения беременности
Сашнина Л. Ю., Шахов А. Г., Владимирова Ю. Ю., Никоненко Г. В.. 144

Белково-липидный обмен у быков-производителей красно-пестрой породы
Абилов А. И. оглы, Дунин М. И., Мороз Т. А., Шеметюк С. А., Приданова И. Е. 162

Маркеры иммунологической реактивности у свиноматок в фетальный период супоросности
Шахов А. Г., Сашнина Л. Ю., Владимирова Ю. Ю. 172

Условия публикации и правила оформления статей 180

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 (20) • 2022

EXPERIMENTAL PHARMACOLOGY

Effect of species-specific cytokine GM-CSF on the cell composition of the organs of the immune system of piglets in case of therapy of the gastrointestinal tract bacterial infection
Mikhaylov E. V., Stepanov D. S., Shabunin B. V., Stepanov E. M., Syromyatnikov M. Yu., Shaposhnikova Yu. V. 18

Animals producers in the production of therapeutic and diagnostic serum drugs
Svintsov R. A., Shamin I. V., Abramova E. G., Razzhivin A. V., Ovchinnikova M. V., Nikiforov A. K. 38

Safety assessment of the drug for pharmacocorrection o f heat stress in animals
Kuzminova E. V., Semenenko M. P., Sampiev A. M., Semenenko K. A., Abramov A. A., Rud E. N. 53

CLINICAL PHARMACOLOGY

Therapy of chronic endometritis in cows using recombinant interferons
Mikhalev V. I., Skorikov V. N., Sashnina L. Yu., Morgunova V. I. 63

Pharmacoprophylaxis of postpartum endometritis in cows using recombinant interferon drugs
Mikhalev V. I., Sashnina L. Yu., Morgunova V. I., Ermolova T. G. 75

Dynamics of the LPO-AOD system indicators when using recombinant interferons for the therapy of subclinical mastitis in cows
Zimnikov V. I., Cheskidova L. V., Ermolova T. G. 87

Uterotonizing effect and efficacy of propranolol hydrochloride in the composition of complex drugs in the therapy of postpartum inflammatory diseases in sows
Filatov A. V., Khlopitskiy V. P., Minin A. V.. 98

AGENTS FOR ZOOHYGIENE, DISINFECTION, DISINSECTIZATION AND DISINFESTATION

Effect of the feed additives profort and likvafid on the state of the gastrointestinal tract microflora of turkeys of Hybrid Converter cross
Kotarev V. I., Lyadova L. V., Belousov D. A., Bolshakov V. N.. 110

Meat productivity of turkeys of hybrid converter cross when introducing the probiotic complex «Likvafid» to the diet
Kotarev V. I., Lyadova L. V., Belousov D. A. 121

PATHOPHYSIOLOGY, PATHOBIOCHEMISTRY AND EXPERIMENTAL THERAPY

Thymus cell pool of the common carp against the background of using Cellobacterin-T
Zhukova V. V., Mikhaylov E. V., Bolotova V. S., Shaposhnikova Yu. V., Shabunin B. V.. 135

Role of cytokines in a physiological course of pregnancy
Sashnina L. Yu., Shakhov A. G., Vladimirova Yu. Yu., Nikonenko G. V. 153

Protein-lipid metabolism in servicing bulls of the red-motley breed
Abilov A. I ogly, Dunin M. I., Moroz T. A., Shemetyuk S. A., Pridanova I. E. 167

Markers of immunological reactivity in sows in the fetal period of gestation
Shakhov A. G., Sashnina L. Yu., Vladimirova Yu. Yu. 176

Protein-lipid metabolism in servicing bulls of the red-motley breed
Akhmedaga Imash ogly Abilov, Dunin M. I., Moroz T. A., Shemetyuk S. A., Pridanova I. E.. 167

Markers of immunological reactivity in sows in the fetal period of gestation
Shakhov A. G., Sashnina L. Yu., Vladimirova Yu. Yu. 176

Publishing terms and article formatting requirements. 180

Научная статья
УДК 619:612.017:616.34—008.314.4:636.4
DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.3.8

ВЛИЯНИЕ ВИДОСПЕЦИФИЧНОГО ЦИТОКИНА ГМ-КСФ НА КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ ИММУННЫХ ОРГАНОВ ПОРОСЯТ ПРИ ТЕРАПИИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

Евгений Владимирович Михайлов*✉, Денис Сергеевич Степанов*, Борис Викторович Шабунин*, Егор Максимович Степанов*, Михаил Юрьевич Сыромятников*, Юлия Владимировна Шапошникова**

**Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, voronezh81@rambler.ru✉*
***Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I, Воронеж, Россия*

Аннотация. В статье представлены данные о влиянии гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) на органы иммунитета — тимус, селезенку и лимфатические узлы поросят-сосунов, у которых была зарегистрирована бактериальная инфекция желудочно-кишечного тракта. При изучении морфологического строения органов использовали общепринятые гистологические и иммуногистохимические методы. Для иммуногистохимических исследований использовали маркеры CD-3, PAX-5. Показано, что иммуностимулирующий эффект ГМ-КСФ достигается за счет стимуляции пула Т-клеток. Это проявлялось повышением количества CD-3-позитивных клеток на 15 % ($p < 0,05$) в лимфатических узлах и на 32 % ($p < 0,01$) в селезенке. В тимусе, наоборот, было показано снижение CD-3 на 12 % ($p < 0,05$).
Ключевые слова: поросята, желудочно-кишечные заболевания, иммуногистохимические исследования, иммунные органы, ГМ-КСФ, CD3, Т-клетки

Бактериальные инфекции желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) у новорожденных животных являются широко распространенной патологией в свиноводческих хозяйствах Российской Федерации. У молодняка подсосного периода, в частности у поросят сосунов, нередко отмечается так называемая «диарея новорожденных» или «неонатальная диарея». По данным зарубежных исследователей распространенность неонатальной диареи составляет до 90 % среди молодняка до двух месяцев [14, 20]. По статистическим данным, в 60 % случаев диареи у поросят были вызваны вирусными патогенами, 23 % — бактериями, и 15 % — кокцидиями [23].

Опасность инфекций ЖКТ заключается в интенсивной и продолжительной дегидратации организма, отказа от еды и вялости поросят; в кишечнике прогрессирует синтез и накопление продуктов неполного расщепления (полипептидов, аммиака, остаточного азота), обусловливающих токсикоз алиментарного происхождения. Изменяется также pH кишечного содержимого, что способствует возникновению благоприятных условий для развития гнилостной микрофлоры и возникновения в желудочно-кишечном тракте дисбактериоза [9]. Гисто-морфометрические и цитологические исследования образцов тонкого отдела кишечника поросят сосунов с диарейным синдромом демонстрируют изменение высоты ворсинчатости слизистого и подслизистого слоев кишечной трубки. Соотношение ворсинка / крипта у животных с диарейным синдромом в 1,2—1,4 раза ниже, чем у клинически здоровых поросят, что уменьшает площадь всасывания питательных веществ [4].

Также современные исследования показывают, что при развитии патологий ЖКТ, у новорожденных поросят происходит нарушение функционирования иммунной системы. Скориковым А. В. с соавторами было показано снижение функцио-

© Михайлов Е. В., Степанов Д. С., Шабунин Б. В., Степанов Е. М., Сыромятников М. Ю., Шапошникова Ю. В., 2022

нальной активности клеточного и фагоцитарного звеньев иммунитета, а также ингибирование гуморальных факторов защиты у больных поросят [5].

Совокупность факторов снижения резистентности организма и циркуляция вирусных агентов в макроорганизме поросят, а также увеличение активности патогенной бактериальной флоры приводит к иммуносупресии, в первую очередь вторичных органов иммунной защиты, расположенных в относительной близости к кишечной трубке (селезенка, брыжеечные лимфатические узлы). В работе Sinkora, M., & Butler, J. E. (2009) было продемонстрировано, что иммунная система новорожденных функционально отличается от иммунной системы взрослых животных. Это обусловлено тем, что во время внутриутробного развития антигенная стимуляция организма минимальна, что приводят к отсутствию или очень редкому появлению эффекторных/Т-клеток памяти у новорожденных поросят. Пул В-клеток после рождения также является незрелым и состоит из однородной партии непримированных В-клеток, которые представляют собой CD2 + CD21+ [28]. Все эти факторы указывают на то, что иммунная система у новорожденных поросят примитивна по сравнению с взрослыми свиньями. Это также видно по низкому уровню периферических лимфоцитов, недоразвитым лимфоидным узлам, рудиментарным тощекишечным бляшкам Пейера и низкому количеству эффекторных/иммунных клеток памяти. Праймированные Т- и В-клетки формируются после рождения при контакте организма с антигенами. Лимфоциты, образовавшиеся при данных взаимодействиях, в дальнейшем развиваются в клетки памяти. Поэтому воздействие патогенных факторов на ранних этапах ее формирования может привести к снижению иммунных функций у поросят. Так исследованиями Михайлова Е. В. с соавт. (2020) было установлено, что морфофункциональная незрелость (гипотрофия) организма усугубляет процесс формирования иммунного ответа и функционирования лимфатических узлов у поросят [2]. Установлено также, что клеточный иммунитет поросят при желудочно-кишечных инфекциях характеризуется лейко- и лимфоцитозом, повышением абсолютного количества Т-лимфоцитов при снижении их относительного уровня, содержание Т-супрессоров и Т-хелперов, повышением абсолютного и относительного уровня В-клеток, фагоцитарной активности нейтрофилов и их поглотительной способности, значений спонтанного и стимулированного НСТ-теста нейтрофильных лейкоцитов при снижении у них индекса стимуляции [7].

Изменениям подвергается не только физиологическое функционирование иммунных органов, но и тканевый состав паренхимы. Отмечается, что в селезенке поросят происходит гипоплазия белой пульпы, что выражается в значительном снижении ее объема и площади фолликулов, аномальные изменения в соединительнотканных частях органа (трабекулах), а также изменяется фактическое качество и количество депонированной крови [2]. В исследовании A. G. Cino Ozuna (2013) и коллег было показано, что при иммунном дефиците в лимфоузлах, миндалинах, бляшках Пфейера и селезенке происходит уменьшение площади и количества лимфоидных фолликулов. Проведение иммуногистохимических исследований показало, что при иммунодефиците происходило уменьшение количества CD-3 позитивных лимфоцитов в лимфатических узлах и практически полное отсутствие в селезенке. В-лимфоциты отсутствовали в селезенке и в небольшом количестве могли присутствовать в лимфоузлах [19]. Аналогичные результаты были показаны в исследованиях Ito T. (2014) и соавторов, где с помощью иммуногистохимии были выявлены различия в клеточном составе иммунных органов и крови между здоровыми и поросятами с врожденным иммунодефицитом [12]. У вторых, в отличии от здоровых, было показано заметное снижение CD3+ Т клеток в тимусе, лимфоузлах и селезенке. Кроме этого, при проведении проточной цитометрии было показано значительное снижение количества циркулирующих CD3+ Т-лимфоцитов и почти полное отсутствие CD4+ Т-лимфоцитов, CD8+ Т-лимфоцитов или В-лимфоцитов в крови.

Как мы видим, из-за недостаточной физиологической зрелости иммунной системы, у поросят, подвергавшихся воздействию патогенных факторов могут развиваться иммунодефицитные состояния, которые приводят к снижению продуктивности и в некоторых случаях — гибели поросят. Во избежание этого в современном свиноводстве применяются препараты, направленные на поддержание иммунитета у молодых поросят. В исследовании Востроиловой Г. А. (2018) было показано, что применение препарата Гентабиферон-С поросятам-отъемышам производило положительный эффект не только на показатели клеточного иммунитета, но и позволило уменьшить вероятность развития желудочно-кишечных патологий, а также увеличило выживаемость и живую массу поросят. В похожем исследовании также было показано, что воздействие иммуномомодуляторов приводило к сни-

жению частоты кишечных инфекций и повышению сохранности у поросят [24]. А при применении иммуностимуляторов свиноматкам было показано увеличение относительных и абсолютных уровней моноцитов, лимфоцитов, Т- и В-лимфоцитов, комплементарной и лизоцимной активности сыворотки крови. Более высокий иммунный статус свиноматок способствовал профилактике послеродовых патологий и увеличение жизнеспособности их пометов. Группа ученых из Китая также успешно применила экстракт свиной плаценты в качестве иммуномодулятора [12]. В результате экспериментов было показано, что воздействие данного экстракта индуцировало активацию Т- и В- клеток, а также при заражении ротавирусной инфекцией у поросят опытной группы была обнаружена более высокая концентрация интерферона-Y, интерлейкина 1 бета.

Одним из перспективных иммуномодуляторов является гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор. Данный белок представляет собой полипептидный цитокин, относящийся к группе гранулоцитарно-макрофагальных колониестимулирующих факторов вместе с интерлейкином 3 и интерлейкином 5. ГМ-КСФ является регуляторным цитокином, который стимулирует рост и дифференцировку гранулоцитарного и моноцитарного ростка. В гуманной медицине он чаще всего используются в качестве стимуляторов кроветворения [16].

В ветеринарной практике в качестве иммуномодулятора препараты ГМ-КСФ применяются достаточно редко. Несмотря на это, исследования показывают, что данный цитокин имеет хорошие перспективы применения из-за его иммуномодулирующего эффекта. Somasundaram C. и соавторы успешно применили ГМ-КСФ в качестве адъюванта при вакцинации свиней [28]. В другом исследовании были получены данные, что сочетание ГМ-КСФ и интерлейкина-2 явилось хорошим адъювантом при вакцинации от ящура, так как его применение повышало уровень стимуляции Т-лимфоцитов и уровень иммуноглобулинов G [32]. Отличие от других цитокинов в том, что этот сигнальный белок может действовать локально, привлекая дендритные клетки, поэтому для оказания эффекта не требуются большие концентрации [16].

Цель данной работы состоит в оценке состояния иммунокомпетентных органов поросят больных бактериальной желудочно-кишечной инфекцией и после проведенной антибактериальной терапии в комплексе с видоспецифичным гранулоцита но-макрофагальным колониестимулирующем фактором (ГМ-КСФ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При клиническом осмотре поросят сосунов в возрасте 3—5 дней была выявлена желудочно-кишечная патология, характеризовавшаяся диареей, угнетенностью, слабостью. С диагностической целью эти животные были подвергнуты вынужденному убою (n = 4) (убой проводили в соответствии с Directive 93/119/E C) и было произведено вскрытие с последующей эвисцерацией внутренних органов. При микробиологическом и молекулярно-генетическом анализе кишечной слизи были выделены *E. coli* энтеропатогенного серотипа O137. Для изучения иммуномодулирующих свойств препарата ГМ-КСФ было сформировано 2 группы, по 40 больных поросят, у которых регистрировали диарею смешанной этиологии. Первой группе применяли внутримышечно квинокол в дозе 0,5 мл/10 кг раз в сутки в течение 5 дней. Второй — квинокол в той же дозе в сочетании с ГМ-КСФ в дозе 0,1 мл/кг двукратно с интервалом 48 часов. От четырех поросят с каждой группы (n = 4) (убой проводили в соответствии с Directive 93/119/E C на 3-и сутки) отбирали образцы селезенки, тимуса и паховых лимфоузлов для проведения морфологических и иммуногистохимических исследований. Материал фиксировался в 10 % растворе забуференного формалина, затем обезвоживался в спиртах возрастающей крепости, после чего заливался в гистологический парафин Histomix (Biovitrum, Россия). Из парафиновых блоков изготавливались срезы толщиной 3 мкм, которые окрашивались гематоксилином-эозином. Также проводили иммуногистохимическое исследование на маркеры CD-3 (маркер Т-лимфоцитов), PAX-5 (маркер регуляции В-лимфоцитов). Имуногистохимическое исследование проводилось на автоматическом иммуностейнере. Для визуализации каждой иммуногистохимической реакции был использован набор «Dako En Vision + System Peroxidase (DAB)» (Германия). Иммуногистохимическую окраску проводили по инструкции в протоколе. Для каждой реакции проводился отрицательный контроль — вместо первичных антител на срезы наносили буфер. После проведения иммуногистохимической реакции ядра докрашивали гематоксилином Вейгерта. Препараты монтировали под полистирол, фотографии были сделаны на микроскопе «Microscreen» (Hosptex Diagnostics, Италия) со встроенной камерой. Для подсчета клеток была использована программа «Toup View» и морфометрический стандарт. Препараты монтировали под полистирол, фотографии были

сделаны на микроскопе Microscreen (Hosptex Diagnostics, Италия) со встроенной камерой.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Морфологические исследования (окраска Г-Э)

Лимфатические узлы (рис 1 А, Г, Ж) у всех животных были покрыты капсулой из плотной соединительной ткани. Рисунок узла был несколько стерт за счет изменения соотношения его частей. Так паракортикальная часть была несколько расширена, с большим числом макрофагов, в цитоплазме, в некоторых из них визуализировались крупные коричневые гранулы, напоминающие на оптическом уровне гемосидерин. Фолликулы во всех исследуемых кусочках были мелкими, без различимых светлых герминативных центров.

Селезенка у больных животных и поросят после лечения (рис 1 Б, Д, З) была покрыта относительно плотной соединительнотканной капсулой, белая пульпа, была представлена большей частью мелкими фолликулоподобными комплексами овальной и неправильной округлой формы без светлых центров.

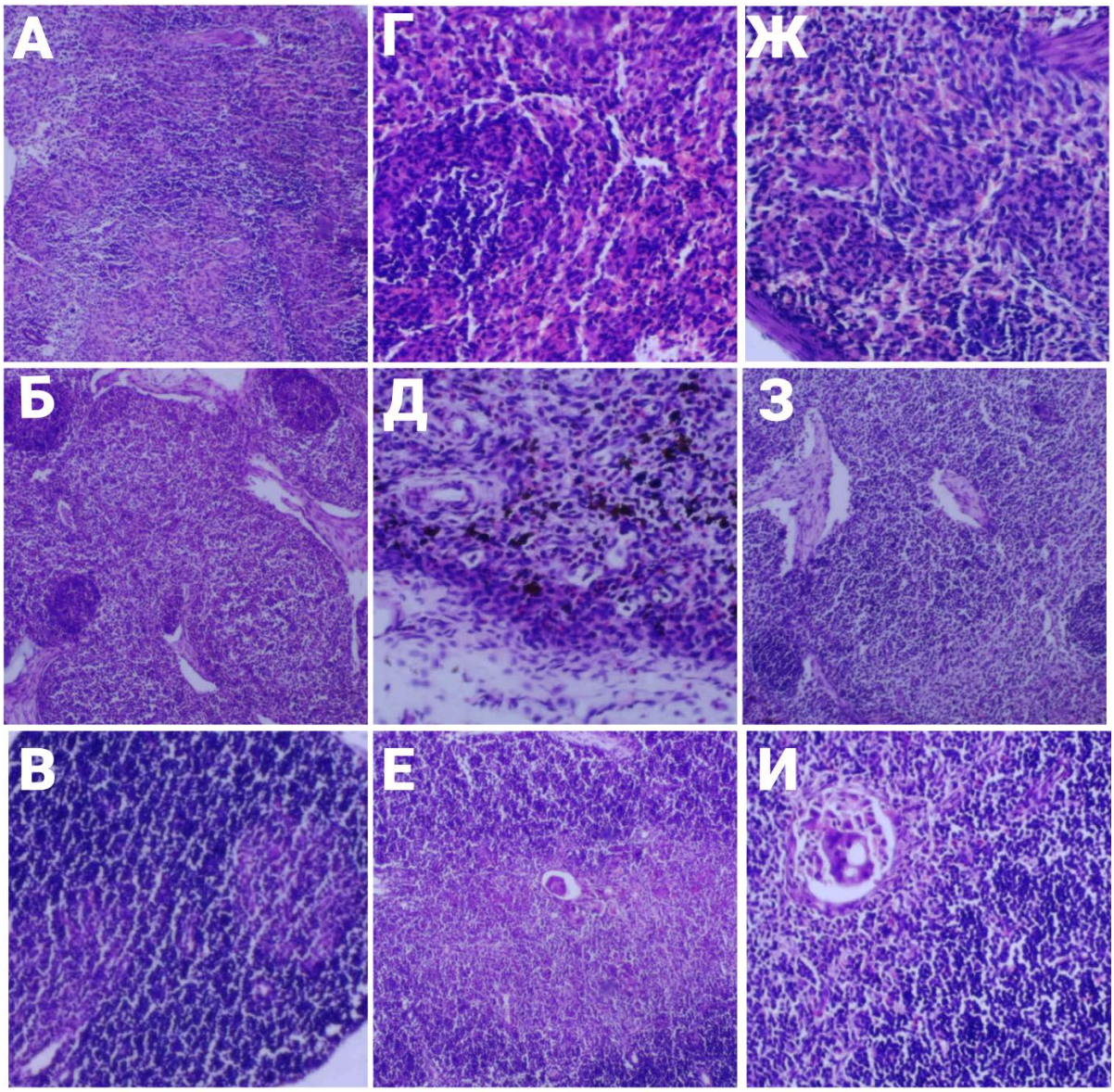


Рис. 1. Гистологическая структура иммунных органов поросят:

лимфатические узлы (*А*), селезенка (*Б*), тимус (*В*) больных поросят; лимфатические узлы (*Г*), селезенка (*Д*), тимус (*Е*) 1 группы; лимфатические узлы (*Ж*), селезенка (*З*), тимус (*И*) 2 группы. Окраска гематоксилин эозин. *А, Б, Е, З* — увеличение 100х; *Г*, *Д*, *Ж*, *В*, *И* — 400х

Все описанные выше элементы располагались вокруг неизмененных пульпарных артерий. Красная пульпа с неравномерным кровенаполнением, заполненная лимфоидными клетками с морфологией бластных.

При исследовании тимуса, было показано, что во всех группах дольчатое строение (рис 1 В, Е, И) органа было выражено, строма была представлена зрелой жировой тканью с запустевшими сосудами. Дольки были разных размеров, преобладали крупные. Граница коркового и мозгового слоя были с трудом различимы, видны лишь в крупных, неправильной формы дольках, расположенных в центре препарата. Тельца Гассаля были мелкие, единичные, концентрического вида, располагались в центре тимических долек. Как мы видим, при проведении морфологических исследований по классическим методикам окрашивания, не было выявлено различий в гистологической структуре иммунных органов, что является следствием незрелости лимфоидной ткани в этом возрасте.

Иммуногистохимическое исследование (CD-3 и PAX-5)

При исследовании ткани селезенки (рис. 2, А, Г, Ж), было видно, что Т-лимфоциты располагались группами и цепочками вокруг и вдоль пульпарных сосудов.

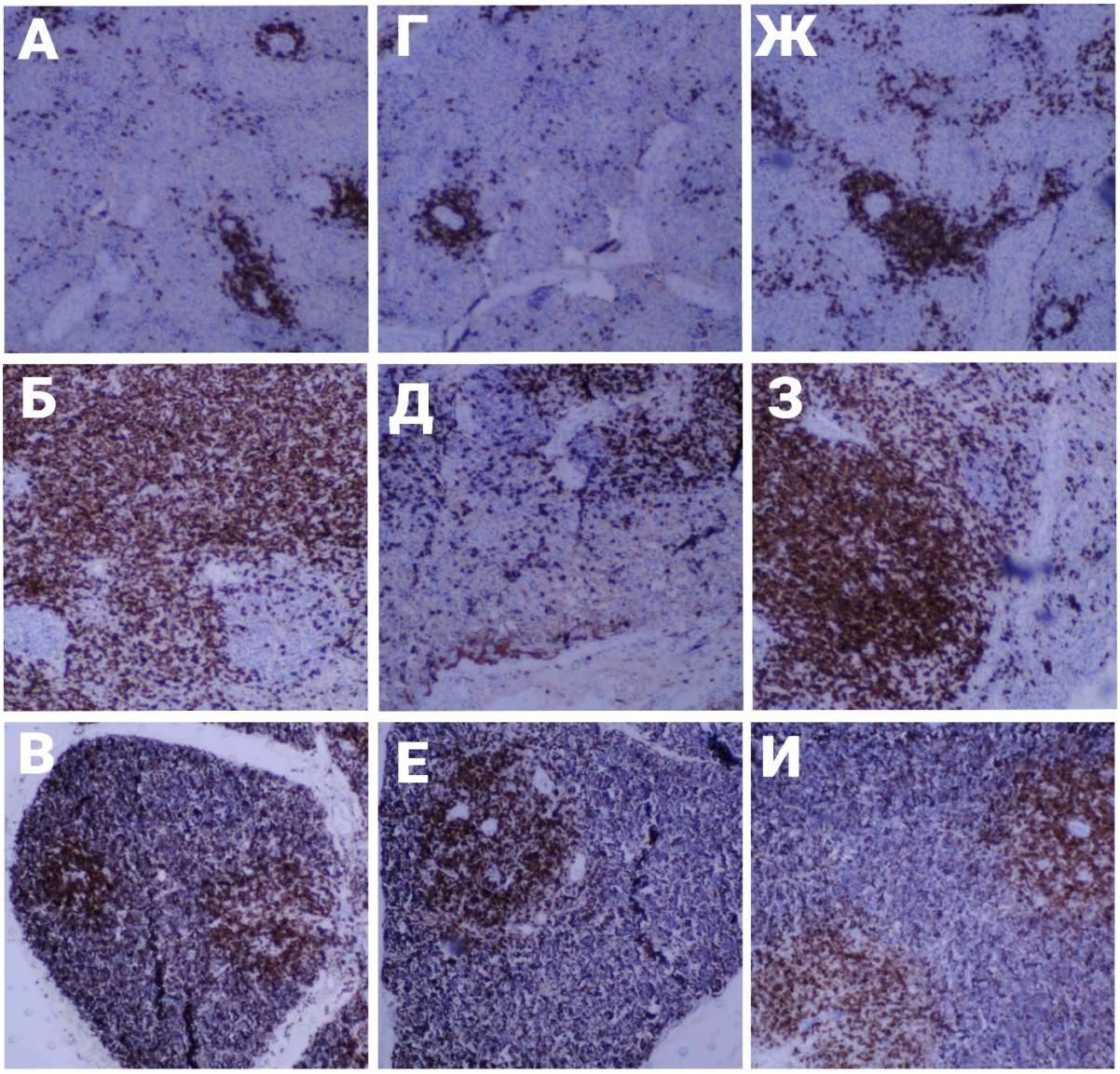


Рис. 2. Гистологическая структура иммунных органов поросят:

лимфатические узлы (*А*), селезенка (*Б*), тимус (*В*) больных поросят; лимфатические узлы (*Г*), селезенка (*Д*), тимус (*Е*) 1 группы; лимфатические узлы (*Ж*), селезенка (*З*), тимус (*И*) 2 группы. Иммуногистохимическая окраска маркер CD-3. Увеличение 400х

Также довольно сильную экспрессию CD-3 можно наблюдать при исследовании ткани лимфоузлов. Похожие данные были получены и в опытах других ученых [17]. Т-лимфоциты в большом количестве располагались практически во всех зонах лимфатического узла, кроме фолликулов и синусов. В них экспрессия CD-3 либо отсутствует, либо минимальная. Антитело к CD-3 также дало сильную экспрессию в тимусе (рис. 2, D—F). Большинство клеток тесно располагались в центре мозгового слоя, в корковом слое их плотность была заметно ниже.

В лимфоузлах и селезенке PAX-5 позитивные клетки было видно лишь в центре лимфоидных фолликулов и герминативных центров соответственно.

В соответствии с топографией и иммунотипом данные клетки, наиболее вероятно, являются бластными клетками герминативных центров, расположенных в толще их В-зон.

В части образцов между PAX-5 позитивными клетками видны клетки без экспрессии, с учетом их топографии и морфологии можно предположить, что это единичные иммунокомпетентные макрофаги.

Ген PAX-5 кодирует белок — активатор, специфичный для линии. В тимусе экспрессия PAX-5 почти не наблюдалась, что также видно из рисунке 3.

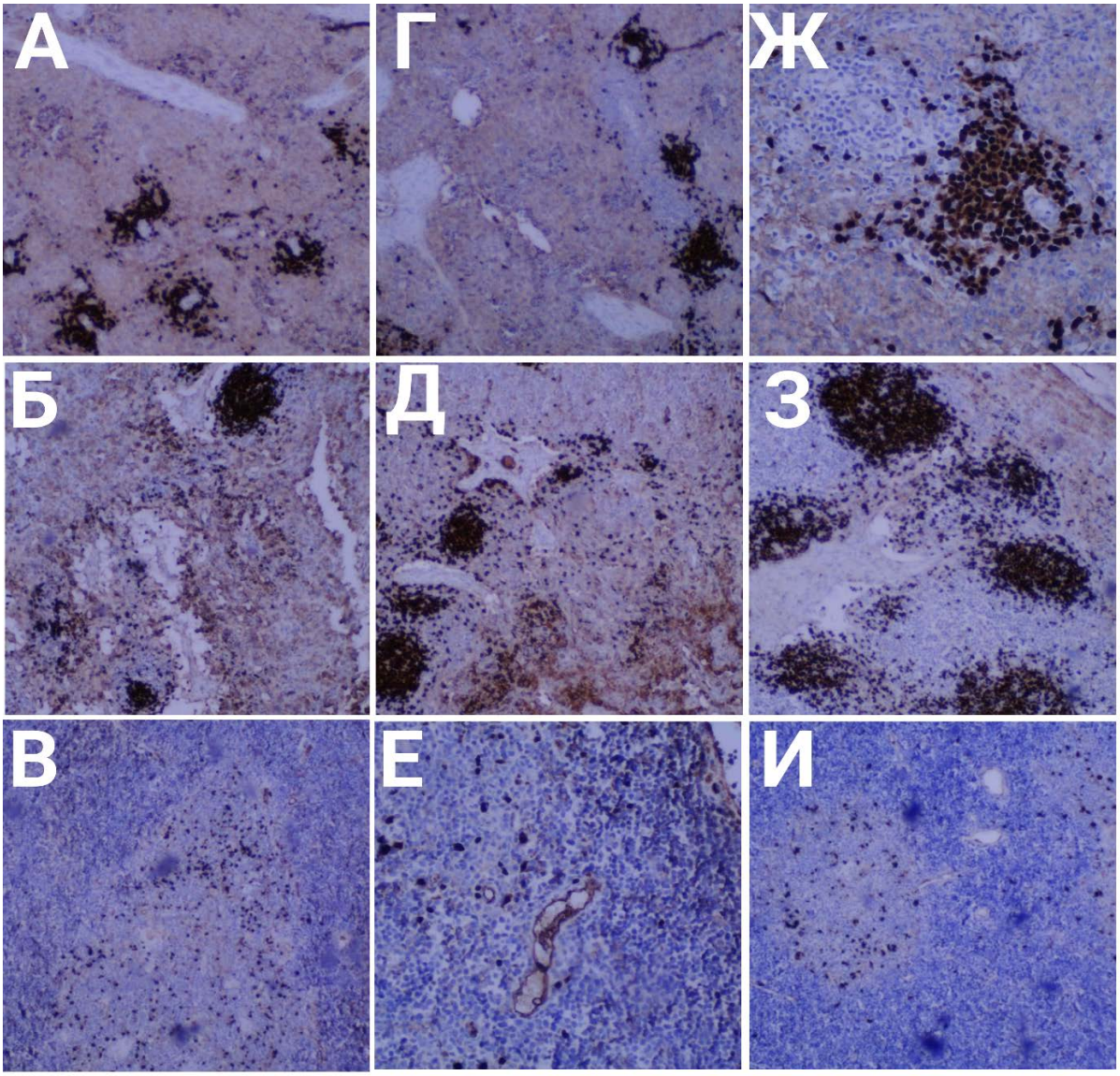


Рис. 3. Гистологическая структура иммунных органов поросят:

лимфатические узлы (*А*), селезенка (*Б*), тимус (*В*) больных поросят; лимфатические узлы (*Г*), селезенка (*Д*), тимус (*Е*) 1 группы; лимфатические узлы (*Ж*), селезенка (*З*), тимус (*И*) 2 группы. Иммуногистохимическая окраска маркер PAX-5. Увеличение 400х

Результаты подсчета CD-3 и PAX-5 клеток представлены ниже в таблице. Видно, что в иммунных органах поросят группы 2 происходило достоверное увеличение количества CD-3 компетентных клеток на 32 % в селезенке и на 15 % в лимфатических узлах. В то же время в тимусе отмечали обратный эффект — количество положительных клеток достоверно снижалось на 12 % по сравнению с группой 1 и на 11 % по сравнению с опытной группой.

Таблица

Подсчет густоты позитивных клеток в иммунных органах в поле зрения 400х

CD-3 (положительно окрашенных клеток/м^2)			
	Больные поросята 3—5 дней	Группа 1	Группа 2
Селезенка	17,4 ± 2,44 **	16,7 ± 2,28**	25,9 ± 2,51
Лимфоузлы	169,1 ± 5,32 *	171,2 ± 4,81*	197,2 ± 5,44
Тимус	211,2 ± 4,56*	208,5 ± 3,81*	187,2 ± 2,78
PAX-5 (положительно окрашенных клеток/м^2)			
Селезенка	59,4 ± 6,92	61,1 ± 7,03	63,5 ± 6,32
Лимфоузлы	41,2 ± 4,37	40,7 ± 4,14	44,8 ± 3,91
Тимус	2,81 ± 0,29	2,75 ± 0,16	3,02 ± 0,54

* $p < 0,05$ по сравнению с группой 3
** $p < 0,01$ по сравнению с группой 3

Учитывая, что PAX-5 это продукт гена, который играет роль не только в В-клеточной дифференцировки, но и является важным транскрипционным фактором семейства белков PAX. Выявленные изменения в лимфатических узлах свидетельствуют о важной роли PAX-5 в созревании и дифференцировки различных лимфоидных клеток, однако в данном случае его можно трактовать как белок, участвующий в созревании именно В-лимфоцитов. Отсутствие достоверных различий в его экспрессии между группами указывает на то, что ГМ-КСФ не оказывал влияния на В-клеточное звено.

При исследовании экспрессии CD-3 в лимфоузлах и селезенке было четко видно, что при воздействии ГМ-КСФ, происходит увеличение количества Т-лимфоцитов, что можно трактовать как усиление иммунного ответа и увеличение их пролиферации. В исследовании E. Eksioglu et al (2007) было показано, что воздействие ГМ-КСФ индуцировало продукцию провоспалительных цитокинов типа 1, в то время как продукция цитокинов типа 2 подавлялась. Пролиферация же аллогенных Т-клеток увеличивалась. Это указывает на провоспалительный эффект данного цитокина [10]. В исследованиях Wang X. et al (2009) было показано, что применение GM—CSF заметно увеличивало уровень интерферона-гамма и интерлейкина-4 в культуре лимфоцитов мышей и сыворотках свиней после антигенной стимуляции вирусом репродуктивно-респираторного синдрома свиней. В данной работе также указывалось, что зараженные поросята, которым применялся ГМ-КСФ имели намного менее выраженные деструктивные изменения в легких по сравнению с интактными, что по мнению авторов указывает на усиление гуморальных и клеточных иммунных реакций [31].

В работе Yufang Shi (2006) была показана роль ГМ-КСФ для Т-клеточного звена. GM—CSF, продуцируемый антиген-презентующими клетками, имеет решающее значение для активации покоящихся Т-клеток. В тимусе же наоборот — было показано снижение количества CD-3 позитивных клеток [25]. В исследованиях Shatskikh O. A. указывалось, что уменьшение количества Т-лимфоцитов в тимусе может указывать на их усиленную миграцию в кровоток или ткани [9]. В наших предыдущих исследованиях также было показано увеличение количества CD-3 и Ki-67 положительных

клеток в тонком отделе кишечника при воздействии ГМ-КСФ [21,31].

Ранее проведенными исследованиями коллективом авторов было продемонстрировано повышение активности клеточного пула лимфоцитов у поросят при применении терапии с ГМ-КСФ. В данном случае, описываемое явление визуализировалось как миграционное движение Т-клеток в просвет кишечной трубки, что является беспрецедентным доказательством стимуляции регионарного, в данном случае кишечного, иммунного ответа [23].

Хорошие результаты дало применение гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора при купировании лучевой болезни беспородных белых мышей. Оказалось, что подопытные животные, которым применяли препарат с содержанием ГМ-КСФ, обладали повышенной выживаемостью посредством активации иммунной системы за счет более интенсивного и раннего восстановления количества лейкоцитарных клеток, что увеличивало продолжительность жизни (20.0 ± 0.8 сут) в сравнении с контрольной группой (10.8 ± 0.7 сут) после облучения в дозе 6.5 гр. Отметим, что фармакокоррекция миелодепрессии радиационной этиологии была обусловлена ускорением регенерационного процесса посредством увеличения уровня нейтрофилов. Это доказывает, что цитокин ГМ-КСФ является стимулятором не только регионарных иммунокомпетентных структур, но и выполняет функцию развития и созревания линейно специфичных гемопоэтических ростковых фракций, которые стимулируют гранулоцитарный росток кроветворения [30].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные морфологические исследования позволяют установить, что воздействие ГМ-КСФ индуцировало активацию иммунокомпетентных CD-3 клеток в селезенке на 32 % и лимфоузлах на 15 %. В то же время в тимусе было показано снижение густоты CD-3 лимфоцитов после применения цитокина на 12 %. Полученные данные показывают, что ГМ-КСФ является перспективным иммуномодулирующим препаратом для использования в ветеринарной практике.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Востроилова Г. А.* Корригирующее влияние Гентабиферона-С на иммунный статус поросят-отъемышей и его эффективность при профилактике кишечника / Г. А. Востроилова, А. Г. Шахов, С. В. Шабунин, Л. Ю. Сашнина, П. А. Паршин, Л. В. Ческидова, Ю. А. Канторович // Российская сельскохозяйственная наука. — 2018 — (6), 58—61.

2. *Михайлов Е. В.* Архитектоника селезенки новорожденных поросят-гипотрофиков. / Е. В Михайлов, И. С. Толкачев, Б. В. Шабунин, Н. А. Хохлова, Н. В. Пасько, С. М. Воротникова & Е. М. Степанов // Ученые записки учреждения образования. Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины, (2020). 56(4), 45—49 с.

3. *Паршин П. А.* Histomorphometr icindicators of small intestine in piglets with neonatal diarrhea. / Л. Ю. Сашнина, Е. В. Михайлов, Н. А. Хохлова, Б. В. Шабунин, Ю. О. Пономарева, & С. М. Воротникова, // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2020 — (2), 214—223 с.

4. *Скориков А. В.* Иммунобиологический статус поросят при острых кишечных инфекциях / А. В. Скориков, Н. Ю. Басова, В. В. Меньшенин // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. — 2018. — Т. 7. — № . 1. — С. 224—228

5. *Степанов Е. М.* Цитологический профиль дуоденального отдела кишечника подсосных поросят при диарейном синдроме / Е. М. Степанов, С. М. Воротникова // Организационный комитет. — 2020. — С. 352.

6. *Шатских О. А.* Реакция cd1a–и cd3-позитивных клеток тимуса при введении мелатонина в различных световых условиях / О. А. Шатских, Е. М. Лузикова., В. Е. Сергеева // Современные проблемы науки и образования. — 2015. — № . 5. — С. 40—40.

7. *Шахов А. Г.* Состояние клеточного иммунитета и цитокиновый профиль у поросят при кишечных инфекциях. / Л. Ю. Сашнина, М. И. Адодина, К. В. Тараканова & М. Ю. Жейнес, // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины — 2019— 55(4), 146—150.

8. *Щербакова Г. Г.* Внутренние болезни животных [Электронный ресурс]: учебник/под общ. ред. ГГ Щербакова, АВ Яшина, АП Курденко, КХ Мурзагулова. Санкт-Петербург: Лань.. (2014).

9. *Шатских О. А.* Морфологическая характеристика тимуса в условиях поступления мелатонина: автореф. дис. … канд. мед. наук: 03.03.04 / О. А. Шатских; [Казан. гос. мед. ун-т М-ва здравоохранения Рос. Федерации]. — Электрон. текстовые дан. (266 КБ). — Казань: [б. и.], 2015. — 23 с.

10. *Cobaleda C. et al*. Pax5: the guardian of B cell identity and function // Nature immunology. — 2007. — Т. 8. — № . 5. — С. 463—470.

11. *Eksioglu E. A.* (2007). GM—CSF promotes differentiation of human dendritic cells and T lymphocytes toward a predominantly type 1 proinflammatory response / E. A. Eksioglu, S. S. Mahmood, M. Chang, & Reddy, V. Experimental hematology, 35(8), 1163—1171.

12. *Ito T. et al*. Generation of recombination activating gene-1-deficient neonatal piglets: a model of T and B cell deficient severe combined immune deficiency //PLoS One. — 2014. — Т. 9. — № . 12. — С. e113833.

13. *Lee K.* Immune modulation effect of porcine placenta extracts in weaned the pig. / H., Park, H. J., Seo, H. G., Kim, J. H., Lim, G. S., Lee, W. Y., … & Song, H. // Journal of animal science, — 2013—91(5), 2405—2413.

14. *Lippke R. T.* Matched case-control study evaluating the frequency of the main agents associated with neonatal diarrhea in piglets. / Borowski, S. M., Marques, S. M., Paesi, S. O., Almeida, L. L., Moreno, A. M., … & de Barcellos, D. E. // Pesquisa Veterinaria Brasileira, —2011—31(6), 505—510.

15. *Liu F.* Radioprotective effect of orally administered beta-d-glucan derived from Saccharomyces cerevisiae / F. Liu [et al.] // Int. J. Biol. Macromol. — 2018. — Vol. 115. — P. 572—579

16. *Liu F.* The mechanisms for the radioprotective effect of beta-d-glucan on high linear-energy-transfer carbon ion irradiated mice / F. Liu [et al.] // Int. J. Biol. Macromol. — 2019. — Vol. 131. — P. 282—292.

17. *Mehta H. M.,* G-csf and gm-csf in neutropenia. / H. M. Mehta, M., Malandra, & S. J. Corey, //The Journal of Immunology –2015—195(4), 1341—1349c.

18. *Owens J. L.* Advances in veterinary investigative pathology techniques for porcine tissues (Doctoral dissertation) — 2019.

19. *Ozuna A. G.* Preliminary findings of a previously unrecognized porcine primary immunodeficiency disorder // Veterinary pathology. — 2013. — Т. 50. — № . 1. — С. 144—146.

20. *Parshin P. A., et al.* «Histomorphometr icindicators of small intestine in piglets with neonatal diarrhea.» Bulluten of veterinary pharmacology 2 (2020): 214—223.

21. *Parshin P.* PSX-B-26 Mitotic activity of immune cells in the intestines of piglets in the treatment of gastrointestinal pathology / P. Parshin, L. Sashnina, E. Mikhailov, B. Shabunin, & S. Vorotnikova, // Journal of Animal Science, 99 (Supplement_3), — 2021—271—272.

22. *Pilip L. V., & Byakova, O. V*. Funktsional'noe sostoyanie zheludochno-kishechnogo trakta u porosyat bol'nykh neonatal'noi diareei i posle lecheniya. Perspektivnoe svinovodstvo: Teoriya i praktika,. (2012 (6).

23. *Postovalova E. A.* Morphology of the thymus and the specific features of its cellular composition in experimental acute and chronic ulcerative colitis / E. A. Postovalova, O. V. Makarova, A. M. Kosyreva & L. P. Michailova, // Arkhiv patologii, 81(5), — 2019—53—63. doi: 10.17116/patol20198105153

24. *Scheerlinck J. P.* Veterinary applications of cytokines. / J. P. Y. Scheerlinck, & H. H. Yen // Veterinary immunology and immunopathology, 108(1—2), — 2005—17—22.

25. *Shabunin S. V.* Porcine biferon-c applied together with medicinal prophylaxis in commercial pig breeding provides immunostimulation of sows and an increased viability of their piglets. / S. V. Shabunin, A. G. Shakhov, G. A. Vostroilova, L. V. Cheskidova, P. A. Parshin, T. I. Ermakova, & N. A. Grigoryeva // 53(4), — 2018—851—859.

26. *Shi Y.* Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM—CSF) and T-cell responses: what we do and don't know / Y. Shi, C. H. Liu, A. I. Roberts, J. Das, G. Xu, G. Ren, … & Devadas, S. // Cell research, 16(2), — 2006—126—133.

27. *Sinkora M.* The ontogeny of the porcine immune system / M. Sinkora, & J. E. Butler // Developmental and comparative immunology, 33(3), — 2009—273—283. https://doi.org/10.1016/j.dci.2008.07.011

28. *Sinkora M.* Lymphocyte development in fetal piglets: facts and surprises. / *M. Sinkora, J. E Butler, W. Holtmeier, & Sinkorova* // Veterinary immunology and immunopathology, 108(1—2), — 2005—177—184c.

29. *Somasundaram C.* Enhanced protective response and immuno-adjuvant effects of porcine GM—CSF on DNA vaccination of pigs against Aujeszky's disease virus /, C. Somasundaram, H. Takamatsu, C. Andreoni, J. C. Audonnet, L. Fischer, F. Lefèvre, & B. Charley // Veterinary Immunology and Immunopathology, 70(3—4), — 1999—277—287 c.

30. *Singh V. K.* Colony-stimulating factors for the treatment of the hematopoietic component of the acute radiation syndrome (H-ARS): a review. / V. K. Singh, V. L. Newman, & T. M. Seed // Cytokine, 71(1), — 2015—22—37.

31. *Vorotnikova S. M.* Уровень cd-3 лимфоцитов в слизистой оболочке тонкого отдела кишечника поросят при комплексной терапии желудочно-кишечных заболеваний бактериальной этиологии. / *S. M. Vorotnikova, B. V. Shabunin, E. V. Mikhailov & D. S. Stepanov* // Ученые записки учреждения образования «витебская ордена «знак почета» государственная академия ветеринарной медицины» 57(3), — 2021-8-м12. DOI 10.52368/2078-0109-2021-57-3-8-

32. *Wang X.* GM—CSF fused with GP3 and GP5 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus increased the immune responses and protective efficacy against virulent PRRSV challenge. / X. Wang, J. Li, P. Jiang, Y. Li, B. Zeshan, J. Cao, & X. Wang // Virus research, 143(1), — 2009-24-32.

33. *Zhang C.* GM—CSF and IL-2 as adjuvant enhance the immune effect of protein vaccine against foot-and-mouth disease / C. Zhang, B. Wang, & M. Wang // Virology journal, 8(1), —2011-1-10.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Е. В. Михайлов — кандидат ветеринарных наук, доцент, заведующий лабораторией инновационных препаратов рекомбинантной протомики отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем;

Д. С. Степанов — кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протомики отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем;

Б. В. Шабунин — старший лаборант лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протомики отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем;

Е. М. Степанов — младший научный сотрудник лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протомики отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем;

М. Ю. Сыромятников — старший научный сотрудник лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протомики отдела экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем;

Ю. В. Шапошникова — кандидат ветеринарных наук, доцент.

Статья поступила в редакцию 28.06.2022 г.

Original article
UDC 619:612.017:616.34—008.314.4:636.4

EFFECT OF SPECIES-SPECIFIC CYTOKINE GM-CSF ON THE CELL COMPOSITION OF THE ORGANS OF THE IMMUNE SYSTEM OF PIGLETS IN CASE OF THERAPY OF THE GASTROINTESTINAL TRACT BACTERIAL INFECTION

Evgeniy Vladimirovich Mikhaylov[*]✉, Denis Sergeevich Stepanov[*], Boris Viktorovich Shabunin[*], Egor Maksimovich Stepanov[*], Mikhail Yuryevich Syromyatnikov[*], Yuliya Vladimirovna Shaposhnikova[**]

[*]*All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia, voronezh81@rambler.ru*✉
[**]*Voronezh State Agricultural University named after Emperor Peter the Great, Voronezh, Russia*

Abstract. The article presents the data on the effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM—CSF) on the organs of the immune system (thymus, spleen and lymph nodes) of suckling piglets, which had a registered bacterial infection of the gastrointestinal tract. When studying the morphological structure of organs, conventional histological and immunohistochemical methods were used. For immunohistochemical studies, markers CD3, PAX5 were used. It has been shown that the immunostimulatory effect of GM—CSF is achieved by stimulating the pool of T cells. This was manifested by an increase in the number of CD3-positive cells by 15 % ($p < 0.05$) in the lymph nodes and by 32 % ($p < 0.01$) in the spleen. In the thymus, on the contrary, a decrease in CD3 by 12 % was shown ($p < 0.05$).
Keywords: piglets, gastrointestinal diseases, immunohistochemical studies, immune organs, GM—CSF, CD3, T cells

Bacterial infections of the gastrointestinal tract (GIT) in newborn animals are a widespread pathology on pig breeding farms of the Russian Federation. In young animals of the suckling period, in particular in suckling piglets, the so-called «diarrhea of the newborns» or «neonatal diarrhea» is often noted. According to foreign researchers, the prevalence of neonatal diarrhea is up to 90 % among young animals up to two months old [14, 20]. According to statistics, 60 % of diarrhea cases in piglets were caused by viral pathogens, 23 % — by bacteria, and 15 % — by coccidia [23].

The danger of gastrointestinal infections lies in the intense and prolonged dehydration of the body, refusal to eat and lethargy of piglets. In the intestine, the synthesis and accumulation of products of incomplete cleavage (polypeptides, ammonia, residual nitrogen), which cause toxicosis of alimentary origin, progresses. The pH of the intestinal contents also changes, which contributes to the emergence of favorable conditions for the development of putrefactive microflora and the occurrence of the gastrointestinal tract dysbacteriosis [9]. Histomorphometric and cytological studies of the samples of the small intestine of suckling piglets with diarrheal syndrome demonstrate a change in the height of the villousness of the mucous and submucosal layers of the entodermal canal. The villus/crypt ratio in animals with diarrheal syndrome is by 1.2—1.4 times lower than in clinically healthy piglets, which reduces the area of nutrient absorption [4].

Modern studies also show that with the development of the gastrointestinal tract pathologies, there is a violation of the immune system functioning in newborn piglets. Skorikov A. V. et al. showed a decrease in the functional activity of cellular and phagocytic immunity, as well as inhibition of humoral defense factors in sick piglets [5].

The combination of factors reducing the resistance of the body and the circulation of viral agents in the macroorganism of piglets, as well as an increase in the activity of pathogenic bacterial flora leads to immunosuppression, primarily of secondary organs of immune defense, located in relative proximity to the

© Mikhaylov E. V., Stepanov D. S., Shabunin B. V., Stepanov E. M., Syromyatnikov M. Yu., Shaposhnikova Yu. V., 2022

entodermal canal (spleen, mesenteric lymph nodes). Sinkora M. and Butler J. E. (2009) have demonstrated that the immune system of neonates is functionally different from that of adult animals. This is due to the fact that during fetal development, antigenic stimulation of the body is minimal, which leads to the absence or very rare appearance of effector and memory T cells in newborn piglets. The pool of B cells after birth is also immature and consists of a homogeneous batch of unprimed B cells, which are CD2 + CD21+ [28]. All these factors indicate that the immune system in newborn piglets is primitive compared to adult pigs. This is also seen in low levels of peripheral lymphocytes, underdeveloped lymph nodes, rudimentary jejunal Peyer's patches and low number of effector and immune memory cells. Primed T and B cells are formed after birth when the body comes into contact with antigens. Lymphocytes formed during these interactions further develop into memory cells. Therefore, the effect of pathogenic factors at the early stages of its formation can lead to a decrease in immune functions in piglets. Thus, the studies of Mikhaylov E. V. et al. (2020) have stated that the morphofunctional immaturity (hypotrophy) of the body aggravates the formation of the immune response and the functioning of the lymph nodes in piglets [2]. It was also established that the cellular immunity of piglets in case of gastrointestinal infections was characterized by leuko- and lymphocytosis, an increase in the absolute number of T lymphocytes with a decrease in their relative level, the content of T-suppressors and T-helpers, an increase in the absolute and relative levels of B cells, phagocytic activity neutrophils and their absorptive capacity, the values of spontaneous and stimulated NST-test of neutrophilic leukocytes with a decrease in their stimulation index [7].

Not only the physiological functioning of the organs of the immune system undergoes changes, but also the tissue composition of the parenchyma. It is noted that hypoplasia of the white pulp occurs in the spleen of piglets, which is expressed in a significant decrease in its volume and area of follicles, abnormal changes in the connective tissue parts of the organ (trabeculae), and the actual quality and quantity of deposited blood also changes [2]. In a study by A. G. Cino Ozuna (2013) and colleagues, it has been shown that in case of an immune deficiency in the lymph nodes, tonsils, Pfeyer's plaques and the spleen, there is a decrease in the area and number of lymphoid follicles. Immunohistochemical studies showed that in case of immunodeficiency there was a decrease in the number of CD3 positive lymphocytes in the lymph nodes and almost complete absence in the spleen. B lymphocytes were absent in the spleen and could be present in small amounts in the lymph nodes [19]. Similar results were shown in the studies by Ito T. (2014) et al., where immunohistochemistry revealed differences in the cellular composition of immune organs and blood between healthy piglets and the piglets with congenital immunodeficiency [12]. In the latter, in contrast to healthy individuals, a marked decrease in CD3+ T cells in the thymus, lymph nodes and spleen was shown. In addition, flow cytometry showed a significant decrease in the number of circulating CD3+ T lymphocytes and an almost complete absence of CD4+ T lymphocytes, CD8+ T lymphocytes or B lymphocytes in the blood.

As we can see, due to insufficient physiological maturity of the immune system, immunodeficiency states that lead to a decrease in productivity and, in some cases, death of piglets, can develop in piglets exposed to pathogenic factors. To avoid this, modern pig breeding uses drugs aimed at maintaining immunity in young piglets. In a study by Vostroilova G. A. (2018), it was shown that the use of the drug Gentabiferon-S in weaned piglets had a positive effect not only on indicators of cellular immunity, but also reduced the likelihood of developing gastrointestinal pathologies and also increased survival and live weight of piglets. In a similar study, it was also shown that exposure to immunomodulators led to a decrease in the incidence of intestinal infections and an increase in livability in piglets [24]. And with the use of immunostimulants in sows, an increase in the relative and absolute levels of monocytes, lymphocytes, T and B lymphocytes, serum complementary and lysozyme activity was shown. The higher immune status of sows contributed to the prevention of postpartum pathologies and increased the viability of their litters. A group of scientists from China has also successfully used porcine placenta extract as an immunomodulator [12]. As a result of the experiments, it was shown that the effect of this extract induced the activation of T and B cells, and also, when infected with rotavirus infection, a higher concentration of interferon-γ, interleukin-1 beta was found in the piglets of the experimental group.

One of the promising immunomodulators is granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. This protein is a polypeptide cytokine belonging to the group of granulocyte-macrophage colony-stimulating factors together with interleukin-3 and interleukin-5. GM—CSF is a regulatory cytokine that stimulates the growth and differentiation of granulocyte and monocyte dendrites. In human medicine, they are most often used as hematopoietic stimulants [16].

In veterinary practice, GM—CSF drugs are rarely used as an immunomodulator. Despite this, studies show that this cytokine has good application prospects due to its immunomodulatory effect. Somasundaram C. et al. successfully used GM—CSF as an adjuvant in pig vaccination [28]. In another study, there were obtained the data that the combination of GM—CSF and interleukin-2 was a good adjuvant for FMD vaccination, since its use increased the level of stimulation of T lymphocytes and the level of immunoglobulins G [32]. The difference from other cytokines is that this signaling protein can act locally, attracting dendritic cells, so high concentrations are not required to have an effect [16].

The objective of this work is to assess the state of the immunocompetent organs of piglets with bacterial gastrointestinal infection and after antibiotic therapy in combination with species-specific granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM—CSF).

MATERIAL AND METHODS

A clinical examination of suckling piglets aged 3—5 days revealed gastrointestinal pathology, characterized by diarrhea, depression and weakness. For diagnostic purposes, these animals were subjected to forced slaughter (n = 4) (slaughter was carried out in accordance with Directive 93/119/E C) and an autopsy was performed, followed by evisceration of internal organs. Microbiological and molecular genetic analysis of intestinal mucus revealed E. coli of the enteropathogenic serotype O137. To study the immunomodulatory properties of the drug GM—CSF, 2 groups were formed, 40 sick piglets each, in which diarrhea of mixed etiology was recorded. The first group received quinocol intramuscularly at a dose of 0.5 ml/10 kg once a day for 5 days. The second was quinocol at the same dose in combination with GM—CSF at a dose of 0.1 ml/kg twice with an interval of 48 hours. From four piglets from each group (n = 4) (slaughter was carried out in accordance with Directive 93/119/E C on day 3), samples of the spleen, thymus and inguinal lymph nodes were taken for morphological and immunohistochemical studies. The material was fixed in 10 % buffered formalin solution, then dehydrated in alcohols of increasing strength, and then embedded in Histomix histological paraffin (Biovitrum, Russia). Sections of 3 μm thick were made from paraffin blocks, which were stained with hematoxylin-eosin. An immunohistochemical study was also performed for markers CD3 (marker of T lymphocytes), PAX5 (marker of B lymphocyte regulation). Immunohistochemical study was carried out on an automatic immunostainer. To visualize each immunohistochemical reaction, the Dako En Vision + System Peroxidase (DAB) kit (Germany) was used. Immunohistochemical staining was performed according to the instructions in the protocol. For each reaction, a negative control was carried out (instead of primary antibodies, a buffer was applied to the sections). After the immunohistochemical reaction, the nuclei were counterstained with Weigert's hematoxylin. The specimens were mounted under polystyrene, the photographs were taken on a Microscreen microscope (Hosptex Diagnostics, Italy) with a built-in camera. Cells were counted using the Toup View program and a morphometric standard. The specimens were mounted under polystyrene, the photographs were taken on a Microscreen microscope (Hosptex Diagnostics, Italy) with a built-in camera.

STUDY RESULTS AND DISCUSSION

Morphological studies (GE staining)

Lymph nodes (Fig. 1 A, D, G) in all animals were covered with a capsule of dense connective tissue. The drawing of the node was somewhat erased due to a change in the ratio of its parts. So the paracortical part was somewhat expanded, with a large number of macrophages in the cytoplasm, in some of them large brown granules were visualized, resembling hemosiderin at the optical level. The follicles in all the studied pieces were small, without distinguishable light germinal centers.

The spleen in sick animals and piglets after treatment (Fig. 1 B, E, H) was covered with a relatively dense connective tissue capsule, white pulp, mostly represented by small follicle-like complexes of oval and irregular round shape without light centers. All the elements described above were located around the intact pulpal arteries. Red pulp with uneven blood filling, filled with lymphoid cells with blast morphology.

When examining the thymus, it was shown that in all groups the lobular structure (Fig. 1 C, E, I) of the organ was expressed, the stroma was represented by mature adipose tissue with empty vessels. The lobules were of different sizes, large ones predominated. The border of the cortical and medulla was hardly distinguishable, visible only in large, irregularly shaped lobules located in the center of the specimen. Hassall's bodies were small, single, concentric, located in the center of the thymic lobules.

As we can see, when conducting morphological studies using classical staining methods, no differences were found in the histological structure of immune organs, which was a consequence of the immaturity of lymphoid tissue at this age.

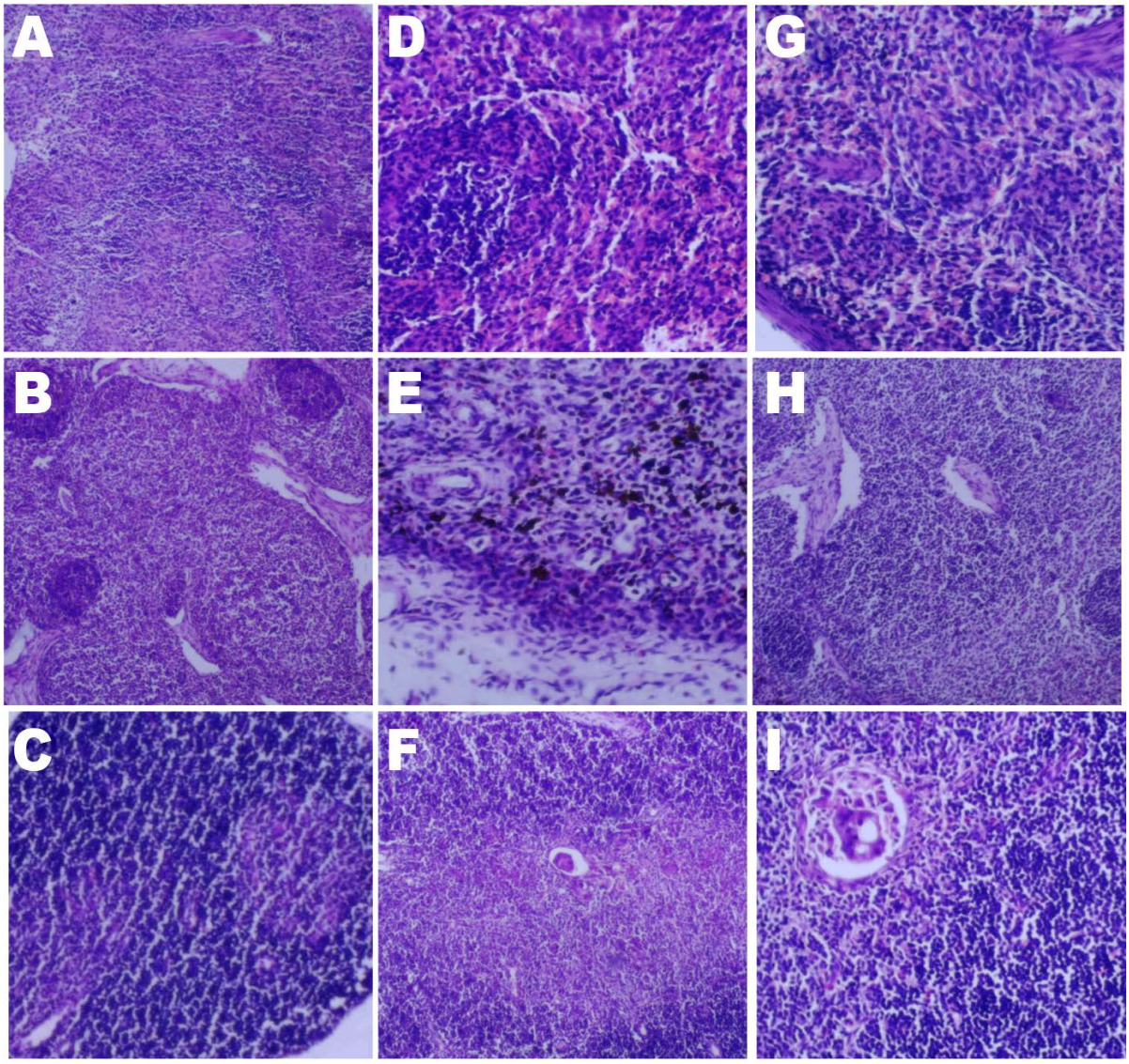


Fig. 1. Histological structure of the organs of the immune system in piglets:
lymph nodes (*A*), spleen (*B*), thymus (*C*) of sick piglets; lymph nodes (*D*), spleen (*E*), thymus (*F*) of group 1; lymph nodes (*G*), spleen (*H*), thymus (*I*) of group 2. Hematoxylin-eosin staining. *A, B, F, H* — 100x magnification; *D, E, G, C, I* — 400x

Immunohistochemical study (CD3 and PAX5)

When examining the spleen tissue (Fig. 2, A, D, G), it was seen that T lymphocytes were located in groups and chains around and along the pulp vessels. A rather strong expression of CD3 can be also observed in the study of lymph node tissue. Similar data were obtained in the experiments of other scientists [17].

T lymphocytes were located in large numbers in almost all areas of the lymph node, except for the follicles and sinuses. CD3 expression in them is either absent or minimal.

The anti-CD3 antibody also gave strong expression in the thymus (Fig. 2 D — F). Most of the cells were closely located in the center of the medulla. In the cortical layer, their density was noticeably lower. In the lymph nodes and spleen, PAX5 positive cells were seen only in the center of the lymphoid follicles and germinal centers, respectively. In accordance with the topography and immunotype, these cells are most likely blast cells of germinal centers located in the thickness of their B-zones.

In some of the samples between PAX5 positive cells, cells without expression are visible, taking into account their topography and morphology, it can be assumed that these are single immunocompetent macrophages.

The PAX5 gene encodes a lineage-specific activator protein. In the thymus, expression of PAX5 was almost not observed, which is also seen in Figure 3.

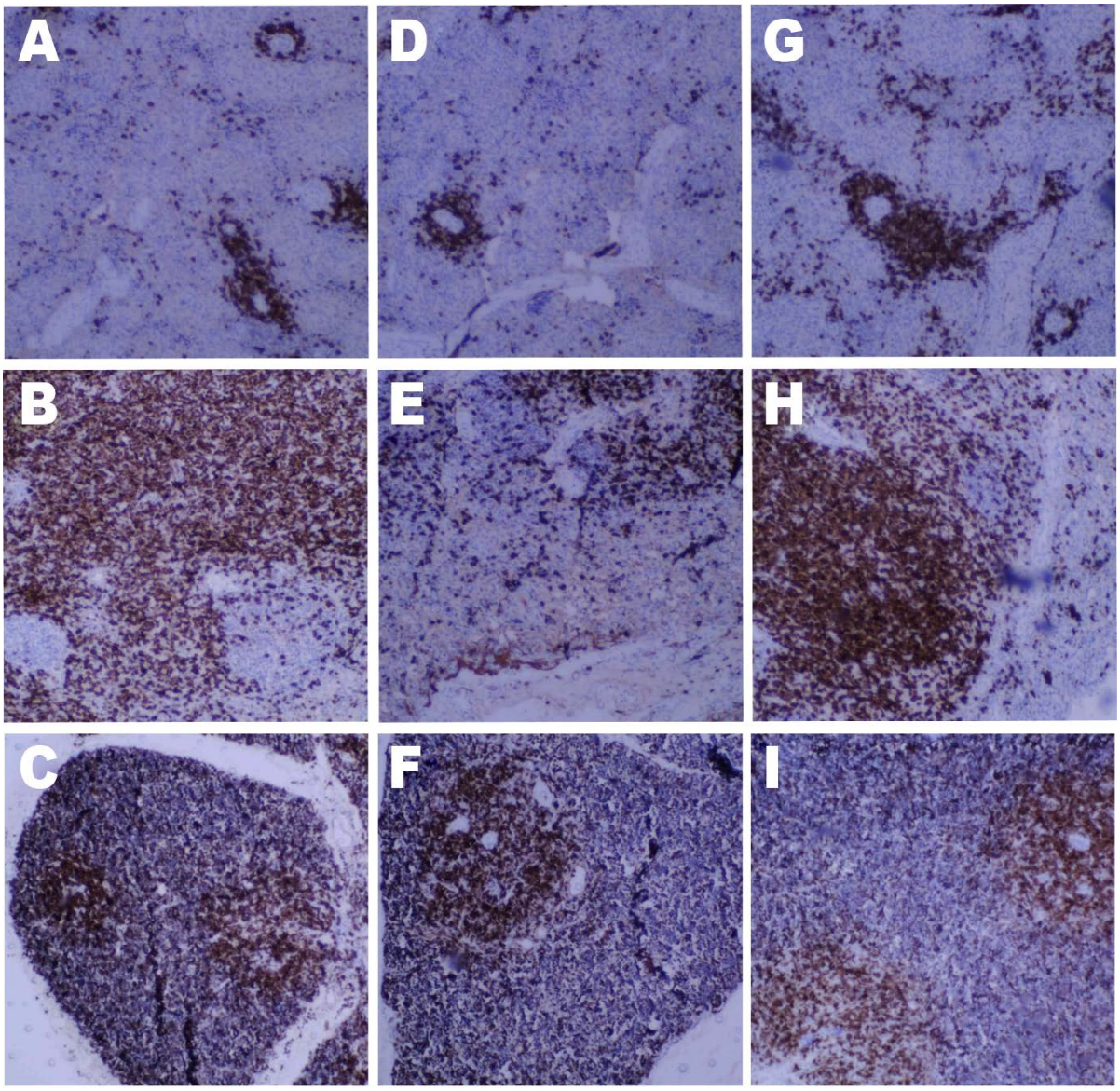


Fig. 2. Histological structure of the organs of the immune system in piglets:
lymph nodes (*A*), spleen (*B*), thymus (*C*) of sick piglets; lymph nodes (*D*), spleen (*E*), thymus (*F*) of group 1; lymph nodes (*G*), spleen (*H*), thymus (*I*) of group 2. Immunohistochemical staining for marker CD3. 400x magnification

The results of counting CD3 and PAX5 cells are presented in the Table below. It can be seen that in the organs of the immune system in the piglets of group 2 there was a significant increase by 32 % in the number of CD3 competent cells in the spleen and by 15 % in the lymph nodes. At the same time, the opposite effect was noted in the thymus — the number of positive cells significantly decreased by 12 %, compared with group 1, and by 11 %, compared with the experimental group.

Considering that PAX5 is a gene product that plays a role not only in B cell differentiation, but is also an important transcription factor of the PAX family of proteins, the revealed changes in the lymph nodes indicate the important role of PAX5 in the maturation and differentiation of various lymphoid cells, however, in this case, it can be interpreted as a protein involved in the maturation of B lymphocytes. The absence of significant differences in its expression between groups indicates that GM—CSF had no effect on the B cell link.

In the study of CD3 expression in the lymph nodes and spleen, it was clearly seen that when exposed to GM—CSF, an increase in the number of T lymphocytes occurred, which could be interpreted as an increase in the immune response and an increase in their proliferation. The study by E. Eksioglu et al. (2007) showed that exposure to GM—CSF induced the production of type 1 pro-inflammatory cytokines, while

the production of type 2 cytokines was suppressed. The proliferation of allogeneic T cells increased. This indicates the proinflammatory effect of this cytokine [10].

In the studies by Wang X. et al. (2009), it was shown that the use of GM—CSF significantly increased the level of interferon-gamma and interleukin-4 in the culture of mouse lymphocytes and sera of pigs after antigen stimulation with the porcine reproductive and respiratory syndrome virus. This work also indicated that infected piglets treated with GM—CSF had much less pronounced destructive changes in the lungs, compared to the intact ones, which, according to the authors, indicated an increase in humoral and cellular immune responses [31]. Yufang Shi (2006) showed the role of GM—CSF for the T cell link. GM—CSF produced by antigen presenting cells is critical for the activation of resting T cells. In the thymus, on the contrary, a decrease in the number of CD3 positive cells was shown [25].

In the studies of Shatskikh O. A., it had been pointed out that a decrease in the number of T lymphocytes in the thymus may indicate their increased migration into the bloodstream or tissues [9]. Our previous studies have also shown an increase in the number of CD3 and Ki67 positive cells in the small intestine when exposed to GM—CSF [21,31].

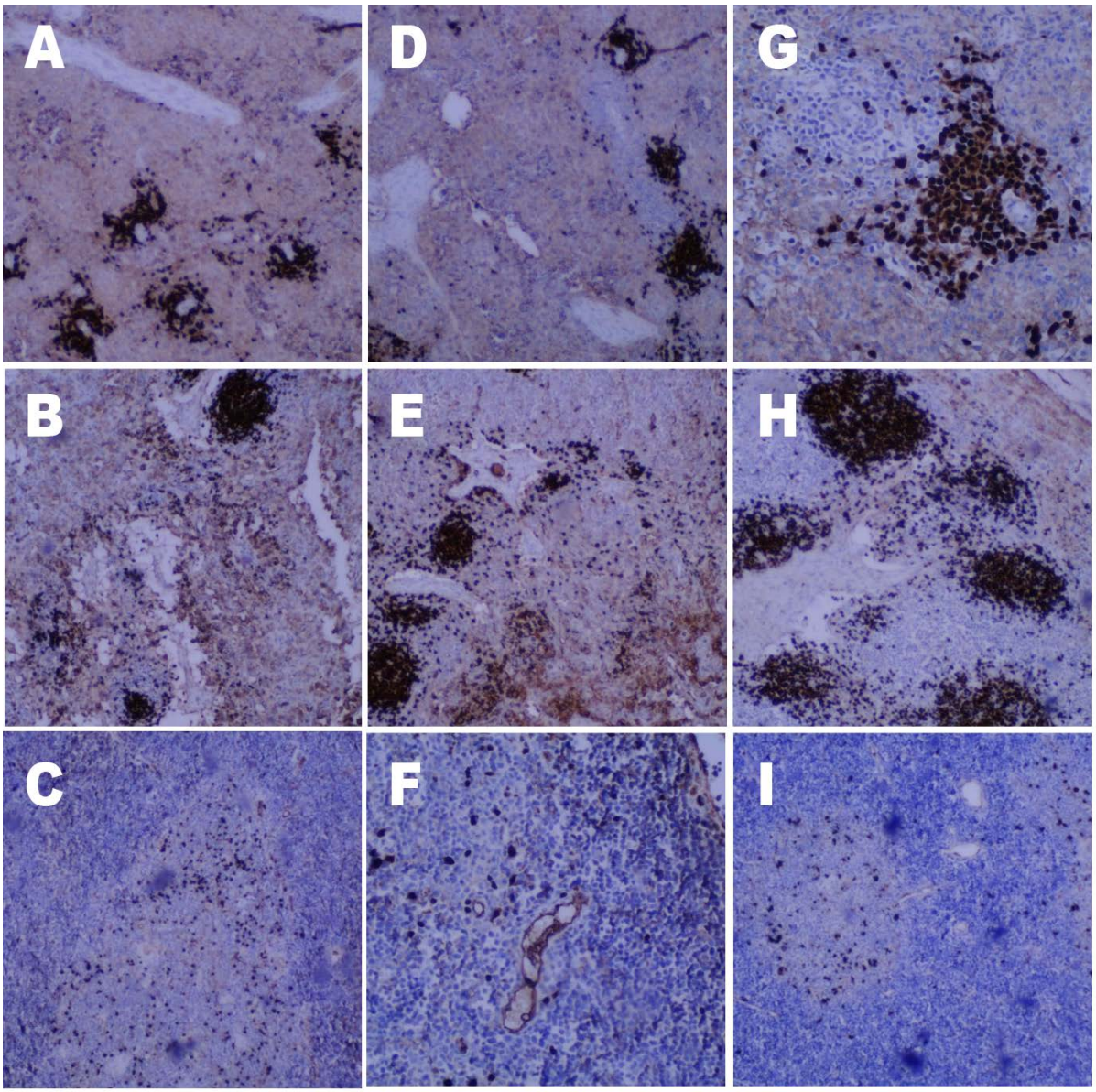


Fig. 3. Histological structure of the organs of the immune system in piglets

lymph nodes (*A*), spleen (*B*), thymus (*C*) of sick piglets; lymph nodes (*D*), spleen (*E*), thymus (*F*) of group 1; lymph nodes (*G*), spleen (*H*), thymus (*I*) of group 2. Immunohistochemical staining for PAX5 marker. 400x magnification

Table

Calculation of the positive cells density in the organs of the immune system within a 400x microscope field of view

CD3 (positively stained cells/m²)			
	Sick piglets at the age of 3—5 d	Group 1	Group 2
Spleen	17.4 ± 2.44 **	16.7 ± 2.28**	25.9 ± 2.51
Lymph nodes	169.1 ± 5.32 *	171.2 ± 4.81*	197.2 ± 5.44
Thymus	211.2 ± 4.56*	208.5 ± 3.81*	187.2 ± 2.78
PAX5 (positively stained cells/m²)			
Spleen	59.4 ± 6.92	61.1 ± 7.03	63.5 ± 6.32
Lymph nodes	41.2 ± 4.37	40.7 ± 4.14	44.8 ± 3.91
Thymus	2.81 ± 0.29	2.75 ± 0.16	3.02 ± 0.54

* $p < 0.05$, compared with group 3
** $p < 0.01$, compared with group 3

Previous studies by a team of authors demonstrated an increase in the activity of the cell pool of lymphocytes in piglets when using therapy with GM—CSF. In this case, the described phenomenon was visualized as a migratory movement of T cells into the lumen of the entodermal canal, which is an unprecedented evidence of stimulation of a regional, in this case, intestinal, immune response [23].

Good results were obtained with the use of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the treatment of radiation sickness in outbred white mice. It turned out that the experimental animals that received the drug containing GM—CSF had an increased survival rate due to the activation of the immune system due to a more intensive and earlier recovery of the number of leukocyte cells, which increased life expectancy (20.0 ± 0.8 days), compared to the control group (10.8 ± 0.7 days) after irradiation at a dose of 6.5 g. It should be noted that the pharmacocorrection of myelodepression of radiation etiology was due to the acceleration of the regeneration process through an increase in the level of neutrophils. This proves that the cytokine GM—CSF is a stimulator not only of regional immunocompetent structures, but also performs the function of development and maturation of linearly specific hematopoietic germ fractions that stimulate the granulocytic germ of hematopoiesis [30].

CONCLUSION

The conducted morphological studies allow us to establish that the effect of GM—CSF induced the activation of immunocompetent CD3 cells in the spleen by 32 % and in the lymph nodes — by 15 %. At the same time, a decrease in the density of CD3 lymphocytes by 12 % was shown in the thymus after the use of the cytokine. The data obtained show that GM—CSF is a promising immunomodulatory drug for the use in veterinary practice.

REFERENCES

1. *Vostroilova G. A.* Corrective effect of Gentabiferon-S on the immune status of weaned piglets and its effectiveness in intestinal prophylaxis. / G. A. Vostroilova, A. G. Shakhov, S. V. Shabunin, L. Yu. Sashnina, P. A. Parshin., L. V. Cheskidova & Yu. A. Kantorovich // Rossiyskaya selskokhozyaystvennaya nauka (Russian Agricultural Science). — 2018 — (6), 58—61.

2. *Mikhaylov E. V.* Architectonics of the spleen of newborn hypotrophic piglets. / E. V. Mikhaylov, I. S. Tolkachev, B. V. Shabunin, N. A. Khokhlova, N. V. Pasko, S. M. Vorotnikova & E. M. Stepanov // Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya Vitebskaya ordena Znak pocheta gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsiny (Transactions of educational establishment Vitebsk Order Badge of Honor State Academy of Veterinary Medicine), (2020). 56(4), 45—49 p.

3. *Parshin P. A.,* Histomorphometr icindicators of small intestine in piglets with neonatal diarrhea. / L. Yu. Sashnina, E. V. Mikhaylov, N. A. Khokhlova, B. V. Shabunin, Yu. O. Ponomareva & S. M. Vorotnikova, // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2020 — (2), 214—223 p.

4. *Skorikov A. V.* Immunobiological status of piglets in case of acute intestinal infections / A. V. Skorikov, N. Yu. — 2018. — V. 7. — No. 1. — P. 224—228.

5. *Stepanov E. M.* Cytological profile of the duodenal intestine of suckling piglets with diarrheal syndrome / E. M. Stepanov, S. M. Vorotnikova // Organizatsionnyy komitet (Organizing Committee). — 2020. — P. 352.

6. *Shatskikh O. A.,* Reaction of cd1a– and cd3-positive thymus cells with the introduction of melatonin under various light conditions / O. A. Shatskikh, E. M. Luzikova, V. E. Sergeeva // Modern problems of science and education. — 2015. — no. 5. — P. 40—40.

7. *Shakhov A. G.* The state of cellular immunity and cytokine profile in piglets with intestinal infections. / L. Yu. Sashnina, M. I. Adodina, K. V. Tarakanova & M. Yu. Zheynes, // Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya Vitebskaya ordena Znak pocheta gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsiny (Transactions of educational establishment Vitebsk Order Badge of Honor State Academy of Veterinary Medicine)- 2019—55(4), 146—150.

8. *Shcherbakova G. G.* Internal diseases of animals [Electronic resource]: textbook / under the general. ed. of G. G. Shcherbakov, A. V. Yashin, A. P. Kurdenko, K. Kh. Murzagulov. St. Petersburg: Lan. (2014).

9. *Shatskikh O. A.* Morphological characteristics of the thymus in conditions of melatonin intake: abstract of a thesis … Cand. of Med. Sciences: 03.03.04 / O. A. Shatskikh; [Kazan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation]. — Electron. text data. (266 KB). — Kazan: [b. i.], 2015. — 23 p.

10. *Cobaleda C. et al*. Pax5: the guardian of B cell identity and function //Nature immunology. — 2007. — V. 8. — No. 5. — P. 463—470.

11. *Eksioglu E. A* (2007). GM—CSF promotes differentiation of human dendritic cells and T lymphocytes toward a predominantly type 1 proinflammatory response / E. A. Eksioglu, S. S. Mahmood, M. Chang, & Reddy, V. Experimental hematology, 35(8), 1163—1171.

12. *Ito T. et al*. Generation of recombination activating gene-1-deficient neonatal piglets: a model of T and B cell deficient severe combined immune deficiency //PLoS One. — 2014. — V. 9. — No. 12. — P. e113833.

13. *Lee K.* Immune modulation effect of porcine placenta extracts in weaned the pig. / H., Park, H. J., Seo, H. G., Kim, J. H., Lim, G. S., Lee, W. Y., … & Song, H. // Journal of animal science, — 2013—91(5), 2405—2413.

14. *Lippke R. T.* Matched case-control study evaluating the frequency of the main agents associated with neonatal diarrhea in piglets. / Borowski, S. M., Marques, S. M., Paesi, S. O., Almeida, L. L., Moreno, A. M., … & de Barcellos, D. E. // Pesquisa Veterinaria Brasileira, — 2011—31(6), 505—510.

15. *Liu F.* Radioprotective effect of orally administered beta-d-glucan derived from Saccharomyces cerevisiae / F. Liu [et al.] // Int. J. Biol. Macromol. — 2018. — Vol. 115. — P. 572—579.

16. *Liu F.* The mechanisms for the radioprotective effect of beta-d-glucan on high linear-energy-transfer carbon ion irradiated mice / F. Liu [et al.] // Int. J. Biol. Macromol. — 2019. — Vol. 131. — P. 282—292.

17. *Mehta H. M.,* G-csf and gm-csf in neutropenia. / H. M. Mehta, M., Malandra, & S. J. Corey, //The Journal of Immunology –2015—195(4), 1341—1349p.

18. *Owens J. L.* Advances in veterinary investigative pathology techniques for porcine tissues (Doctoral dissertation) — 2019.

19. *Ozuna A. G.* Preliminary findings of a previously unrecognized porcine primary immunodeficiency disorder // Veterinary pathology. — 2013. — V. 50. — No. 1. — P. 144—146.

20. *Parshin P. A., et al.* Histomorphometr icindicators of small intestine in piglets with neonatal diarrhea. Bulletin of Veterinary Pharmacology 2 (2020): 214—223.

21. *Parshin P.* PSX-B-26 Mitotic activity of immune cells in the intestines of piglets in the treatment of gastrointestinal pathology / P. Parshin, L. Sashnina, E. Mikhailov, B. Shabunin, & S. Vorotnikova, // Journal of Animal Science, 99 (Supplement_3), — 2021—271—272.

22. *Pilip L. V., & Byakova, O. V*. Functional state of the gastrointestinal tract in piglets with neonatal diarrhea and after treatment. Perspektivnoe svinovodstvo: Teoriya i praktika (Perspective pig breeding: theory and practice). (2012 (6).

23. *Postovalova E. A.* Morphology of the thymus and the specific features of its cellular composition in experimental acute and chronic ulcerative colitis / E. A. Postovalova, O. V. Makarova, A. M. Kosyreva & L. P. Michaylova, // Arkhiv patologiy, 81(5), — 2019—53—63. doi: 10.17116/patol20198105153

24. *Scheerlinck J. P.* Veterinary applications of cytokines. / J. P. Y. Scheerlinck, & H. H. Yen // Veterinary immunology and immunopathology, 108(1—2), — 2005—17—22.

25. *Shabunin S. V.* Porcine biferon-c applied together with medicinal prophylaxis in commercial pig breeding provides immunostimulation of sows and an increased viability of their piglets. / S. V. Shabunin, A. G. Shakhov, G. A. Vostroilova, L. V. Cheskidova, P. A. Parshin, T. I. Ermakova, & N. A. Grigoryeva // 53(4), — 2018—851—859.

26. *Shi Y.* Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM—CSF) and T cell responses: what we do and don't know / Y. Shi, C. H. Liu, A. I. Roberts, J. Das, G. Xu, G. Ren, … & Devadas, S. // Cell research, 16(2), — 2006—126—133.

27. *Sinkora M.* The ontogeny of the porcine immune system / M. Sinkora, & J. E. Butler // Developmental and comparative immunology, 33(3), — 2009—273—283. https://doi.org/10.1016/j.dci.2008.07.011

28. *Sinkora M.* Lymphocyte development in fetal piglets: facts and surprises. / *M. Sinkora, J. E Butler, W. Holtmeier, & Sinkorova* // Veterinary immunology and immunopathology, 108(1—2), — 2005—177—184p.

29. *Somasundaram C.* Enhanced protective response and immuno-adjuvant effects of porcine GM—CSF on DNA vaccination of pigs against Aujeszky's disease virus /, C. Somasundaram, H. Takamatsu, C. Andreoni, J. C. Audonnet,

L. Fischer, F. Lefèvre, & B. Charley // Veterinary Immunology and Immunopathology, 70(3—4), — 1999—277—287 p.

30. *Singh V. K.* Colony-stimulating factors for the treatment of the hematopoietic component of the acute radiation syndrome (H-ARS): a review. / V. K. Singh, V. L. Newman, & T. M. Seed // Cytokine, 71(1), — 2 015—22—37.

31. *Vorotnikova S. M.* The level of cd-3 lymphocytes in the mucous membrane of the small intestine of piglets in the complex therapy of gastrointestinal diseases of bacterial etiology. / *S. M. Vorotnikova, B. V. Shabunin, E. V. Mikhaylov & D. S. Stepanov* // Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya «Vitebskaya ordena «Znak pocheta» gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsiny» (Transactions of educational establishment «Vitebsk Order «Badge of Honor» State Academy of Veterinary Medicine»). 57(3), — 2021—8—12. DOI 10.52368/2078-0109-2021-57-3-8

32. *Wang X.* GM—CSF fused with GP3 and GP5 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus increased the immune responses and protective efficacy against virulent PRRSV challenge. / X. Wang, J. Li, P. Jiang, Y. Li, B. Zeshan, J. Cao, & X. Wang // Virus research, 143(1), — 2009—24—32.

33. *Zhang C.* GM—CSF and IL-2 as adjuvant enhance the immune effect of protein vaccine against foot-and-mouth disease / C. Zhang, B. Wang, & M. Wang // Virology journal, 8(1), —2011—1—10.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

E. V. Mikhaylov — Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, Head of the Laboratory of Innovative Preparations of Recombinant Proteomics, Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems;

D. S. Stepanov — Candidate of Medical Sciences, Junior Scientific Associate, Laboratory of Innovative Preparations of Recombinant Proteomics, Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems;

B. V. Shabunin — Senior Laboratory Assistant, Laboratory of Innovative Preparations of Recombinant Proteomics, Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems;

E. M. Stepanov — Junior Scientific Associate, Laboratory of Innovative Preparations of Recombinant Proteomics, Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems;

M. Yu. Syromyatnikov — Senior Scientific Associate, Laboratory of Innovative Preparations of Recombinant Proteomics, Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems;

Yu. V. Shaposhnikova — Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor.

The article was submitted 28.06.2022.

Научная статья
УДК 557.083.223:615.2
DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.3.27

ЖИВОТНЫЕ-ПРОДУЦЕНТЫ В ПРОИЗВОДСТВЕ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ И ДИАГНОСТИЧЕСКИХ СЫВОРОТОЧНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Роман Александрович Свинцов[*]✉, Илья Владимирович Шамин[*], Елена Геннадьевна Абрамова[*, **], Алексей Владимирович Разживин[*], Мария Владимировна Овчинникова[*], Алексей Константинович Никифоров[*, **]

[*]Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Саратов, Россия, roman-sv@mail.ru✉
[**]Саратовский государственный аграрный университет имени Н. И. Вавилова Министерства сельского хозяйства Российской Федерации, Саратов, Россия

Аннотация. Оптимальный выбор животного-продуцента для производства сывороточных препаратов — одна из важных задач, без решения которой невозможно получить продукт надлежащего качества с минимальной себестоимостью. В обзоре представлен накопленный опыт выбора и эксплуатации животных-продуцентов при производстве сывороточных препаратов медицинского и ветеринарного применения. Дана краткая историческая справка развития направления прикладной иммунологии, получившей название сывороточного дела, в разрезе эксплуатации различных животных-продуцентов. Также представлены характеристики основных продуцентов лечебно-профилактических и диагностических сывороток. Рассмотрены их физиологические особенности, такие как порода, возраст, пол и то влияние, какое они оказывают, прежде всего, на иммунологическую реактивность продуцента и способность к длительной эксплуатации. По ряду животных-продуцентов приведены данные видового сравнения при получении специфических препаратов. Приведен перечень российских лечебно-профилактических и диагностических сывороточных препаратов медицинского и ветеринарного назначения и их продуценты
Ключевые слова: животные-продуценты, лечебно-профилактические сыворотки, иммуноглобулины, диагностические сыворотки, сывороточные препараты

Одним из показателей функционирования иммунной системы животных является способность к продуцированию в крови специфических антител в ответ на воздействие антигенов. Это свойство лежит в основе получения различных специфических сывороточных препаратов из крови животных-продуцентов лечебно-профилактического и диагностического профилей. К настоящему времени накоплен достаточно богатый опыт, указывающий на возможность использования для получения специфических сывороток животных различных видов.

Производство лечебно-профилактических сывороток характеризуется большими объемами выпускаемой продукции, что обусловливает производственную эксплуатацию в основном крупных животных (лошади, волы, коровы, мулы), так как от них можно получить большие количества иммунной крови. При изготовлении диагностических сывороток, где объем выпускаемой продукции невелик, продуцентами в основном служат овцы, козы, кролики, морские свинки, крысы, мыши [17].

Оптимальный выбор животного-продуцента для производства сывороточных препаратов — одна из важных задач, без решения которой невозможно получить продукт надлежащего качества с минимальной себестоимостью. Среди факторов, определяющих выбор продуцента, можно выделить следующие: иммунологическая реактивность животного к тому или иному антигену, плановые объемы выпускаемой продукции, стоимость содержания данного вида животного, удобство ухода за продуцентами и проведения технологических манипуляций с ними, наличие базы восполнения жи-

© Свинцов Р. А., Шамин И. В., Абрамова Е. Г., Разживин А. В., Овчинникова М. В., Никифоров А. К., 2022

вотных-продуцентов с требуемыми качествами (порода, возраст, вес, пол, состояние здоровья и т. п.).

Цель обзора — актуализировать накопленный опыт выбора и эксплуатации животных-продуцентов при производстве сывороточных препаратов медицинского и ветеринарного применения.

Если обратиться к истории, то уже на заре развития направления прикладной иммунологии, получившей название сывороточного дела, исследователи привлекали в опыты самый широкий спектр животных. Так, в 1890 г. E. Behring и S. Kitasato, иммунизируя кроликов столбнячным токсином, а морских свинок — дифтерийным токсином, выявили появление антитоксических свойств у сыворотки крови этих животных.

В 1891 г. E. Behring (Германия) впервые получил лечебную противостолбнячную сыворотку от лошадей, а в следующем году — противодифтерийную сыворотку также от лошадей. Позднее (1895—1897 гг.) лошади послужили продуцентами для производства противодифтерийной сыворотки в России.

В 1891 г. V. Babes и R. Archez успешно применили сыворотку иммунизированных собак для постэкспозиционной профилактики бешенства у людей, укушенных больным волком. В 1893 г. G. Tizzoni и E. Centanni для изготовления антирабической сыворотки в качестве продуцентов использовали овец, а в 1905 г. A. Marie получает активную сыворотку против бешенства от кроликов и баранов [17].

В начале XX века были проведены успешные эксперименты по получению активных иммунных сывороток против ряда бактериальных и вирусных инфекций от различных животных-продуцентов. Так, П. В. Сизовым была получена пастереллезная сыворотка от крупного рогатого скота; M. Weinberg изготовил сыворотку против анаэробной клостридиальной (газовой) инфекции из иммунного сырья от баранов и лошадей; S. Flexner, P. Lewis, A. Petit, работая с козами, овцами и лошадьми, получили сыворотку, нейтрализующую вирус полиомиелита в достаточно больших концентрациях.

В 1959 г. Б. Вайнберг для изготовления брюшнотифозной агглютинирующей сыворотки использовал в качестве продуцентов сусликов, а Ю. К. Петров и З. Г. Пейсель в 1961 г. использовали свиней для продуцирования типоспецифических противогриппозных сывороток [24].

В конце шестидесятых годов прошлого века были разработаны методики изготовления антилимфоцитарной сыворотки из иммунного сырья от коз, ослов и лошадей [4]. В это же время развивались исследования по изготовлению антителсодержащих асцитических жидкостей, где продуцентами выступили белые мыши и крысы [9].

Как видно из вышеописанного, для получения специфических сывороток с успехом могут быть использованы самые различные животные, обладающие, в первую очередь, выраженной иммунологической реактивностью к тому или иному антигену.

Далее подробнее остановимся на критериях выбора наиболее востребованных животных для использования в качестве продуцентов лечебно-профилактических и диагностических сывороток.

Продуценты лечебно-профилактических сывороток

Наиболее предпочтительными продуцентами лечебно-профилактических сывороток являются крупные животные, такие как лошади, крупный рогатый скот, мулы. Они могут дать для производства большие количества иммунного сырья, обеспечив тем самым значимые объемы выпускаемой продукции. Основными продуцентами в силу ряда преимуществ считаются лошади. Во-первых, лошади — высокореактивные животные в иммунологическом ракурсе. Они быстро начинают продуцировать специфические антитела в требуемых для производства титрах. Во-вторых, лошади удобны в плане содержания, кормления и проведения с ними работ, связанных с иммунизацией и взятиями крови. Кроме этого, от лошадей можно получить самые большие объемы крови и, соответственно, целевого продукта [17].

Одним из важнейших моментов, обеспечивающих успех сывороточного производства, является подбор лошадей-продуцентов, так как иммунологическая реактивность и длительность эксплуатации животных различна и зависит от ряда физиологических особенностей и прежде всего от породы, возраста и пола.

Порода лошадей-продуцентов имеет немаловажное значение и во многом определяет успех иммунизации и эксплуатации. Слободской Р. М. провел наблюдение над лошадьми улучшенной (помесь с орловским рысаком), донской и арабской породами и беспородными, иммунизированными столбнячным анатоксином [27]. Оказалось, что первые три группы лошадей способны вырабатывать антитоксины высокого титра и длительно удерживать его на этом уровне. Что касается беспородных лошадей, то у значительной части продуцентов после подъема титра до 600—700 АЕ уже после 5—6

циклов иммунизации активность сыворотки резко снижалась и лошади становились непригодными для дальнейшей эксплуатации. Ю. Б. Лукин получал противостолбнячную сыворотку с высоким титром при использовании лошадей, относящихся к тяжелой арденской породе [21].

В исследовании Зиняевой Р. А. показано, что выход в продуценты противостолбнячной сыворотки у лошадей донской породы составлял 96 % [14]. Автором установлено, что лошади казахской улучшенной породы в 89 % случаях становились активными продуцентами, причем 85 % — уже после 1-го цикла иммунизации. Лошади арабской породы также имели выход в продуценты до 90 %. Сравнительно низкий выход в продуценты отмечался у лошадей, заготовленных в Томской области (72 %) и у местной казахской породы (71 %).

Наиболее рентабельными продуцентами противодифтерийной сыворотки являлись лошади улучшенной англо-донской и донской пород и значительно реже в качестве продуцентов использовали животных кабардинской, монгольской пород и беспородных [25].

В Томском НИИ вакцин и сывороток в XX веке выполнялись исследования по влиянию породы на уровень образования вируснейтрализующих антител в крови лошадей-продуцентов сыворотки против клещевого энцефалита. Установлено, что самыми иммунологически реактивными оказались животные донской породы, затем — улучшенные (помесь беспородных лошадей с орловскими рысаками) и менее реактивными оказались беспородные лошади [35].

Стрельникова Л. А. указывает, что при антирабической иммунизации наилучшими продуцентами являлись лошади, заготовленные в Томской области (73 %), далее следует казахская верховая, улучшенная донской или буденновской породами (57 %), и слабореактивной оказалась казахская местная улучшенная порода (47 %) [28].

Фрид С. М. и Зибицкер Д. Х. проводили исследования по влиянию возраста продуцентов на активность получаемого от них иммунного сырья. Лошади-продуценты противодифтерийной сыворотки были разделены на 4 возрастные группы: первая — до 6 лет включительно, вторая — от 7 до 12 лет, третья от 13 до18 и четвертая — от 19 лет и выше. Проанализировав данные, авторы пришли к выводу, что накопление антител находится в прямой зависимости от возраста продуцентов. Так, от первых 3 групп были получены сыворотки с титром антитоксина от 654 до 561 АЕ, а у продуцентов четвертой возрастной группы титр сывороток составлял 397 АЕ [17].

Установлено, что наиболее иммунологически реактивными животными являются лошади в возрасте 2—5 лет, которые становились продуцентами противостолбнячной сыворотки в большинстве случаев уже в 1-м цикле эксплуатации и значительно медленнее происходило нарастание антитоксина в сыворотках у животных старше 6 лет [14]. В то же время Федоров Ю. В. указывает, что наибольшей иммунологической реактивностью к вирусу клещевого энцефалита обладают лошади в возрасте 6—9 лет [35].

Несмотря на имеющиеся данные об успешном применении жеребят в качестве продуцентов иммунных сывороток, ветеринарные врачи сходятся во мнении, что в продуценты целесообразно брать лошадей возрастом 3 года и более, поскольку к этому возрасту животные достигают физиологической зрелости и организм легче переносит иммунизацию и обильные кровопускания.

Зиняевой Р. А. проведен анализ влияния пола на интенсивность образования антитоксина у 1074 лошадей-продуцентов противостолбнячной сыворотки за период в 16 лет [14]. В числе продуцентов были 506 кобылиц (47 %), 512 жеребцов (48 %) и 56 меринов (5 %). Установлено, что большей иммунологической реактивностью к столбнячному анатоксину обладали кобылицы и мерины, которые уже в первом цикле эксплуатации в большинстве своем стали продуцентами.

ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» (г. Саратов) более 20 лет производит иммунобиологический лекарственный препарат для постэкспозиционной профилактики бешенства у людей «Иммуноглобулин антирабический из сыворотки крови лошади жидкий». Поскольку уже изначально производство планировалось масштабным, с целью обеспечения данным препаратом медицинских учреждений всей страны, в качестве продуцента была выбрана лошадь в силу высокой иммунологической реактивности к рабическому антигену и возможности получения большого количества иммунного сырья.

Опыт производства гетерологичного антирабического иммуноглобулина в институте «Микроб» подтверждает более длительную эксплуатацию породистых лошадей (русская рысистая, стандартбредная, буденновская) по сравнению с местными беспородными лошадьми из товарных хозяйств Саратовской области. В настоящее время для работы отбираются лошади возрастом 3 и более лет как наиболее выносливые в эксплуатации. По по-

ловому признаку распределение, следующее: кобылицы составляют в среднем 70—75 %, мерины и жеребцы — 25—30 % от общего числа поголовья. Превалирование кобылиц объясняется удобством содержания, особенно во время группового выгула, тогда как жеребцы из-за их нрава требуют индивидуального выгула и содержания.

Помимо лошадей, в Российской Федерации при изготовлении сывороточных препаратов ветеринарного назначения в качестве продуцентов иммунных сывороток активно используют крупный рогатый скот, в основном, красной степной породы [22, 30]. Половые предпочтения при выборе в продуценты здесь однозначны — в качестве продуцентов эксплуатируют волов (кастрированные быки) [8, 22, 30, 34, 37]. Основное преимущество — это удобство содержания и проведения технологических манипуляций с волами, по сравнению с быками и коровами.

Также, как в случае с лошадьми-продуцентами, при подборе волов предпочтение отдается животным, достигшим физиологической зрелости (не менее 2 лет) и имеющим массу не менее 400 кг [30, 37]. От таких продуцентов возможен максимальный забор иммунной крови, кроме того, они более выносливы по сравнению с молодыми или старыми животными.

Эксплуатация волов-продуцентов, по данным ряда исследований, имеет ряд преимуществ перед другими видами животных. Так, по материалам Е. К. Волик, срок эксплуатации волов, продуцирующих иммунные сыворотки, более длительный. Особенно длительный срок эксплуатации наблюдается у волов-продуцентов антипаратифозной и противопастереллезной сывороток, где средний срок эксплуатации достигает 6—7 лет. Амилоидное перерождение печени и других паренхиматозных органов, сопровождающее эксплуатацию лошадей-продуцентов ряда сывороток, у волов, как правило, не наблюдается. Однако в производстве противосибиреязвенных и противорожистых сывороток волы как продуценты не могут заменить лошадей, так как дают менее активную сыворотку [8].

Нефедьев А. И. сообщает, что сыворотка против паратифа овец с равноценными терапевтическими свойствами получена как от волов степной породы, так и от овец мериносовой породы. Однако для производственных целей экономически целесообразнее эксплуатировать крупный рогатый скот [22].

На основании опыта изготовления противорожистой сыворотки установлено, что получение высокоактивных сывороток достигается применением уплотненной схемы гипериммунизации волов с сокращением интервалов между введениями антигена и увеличением дозировок антигена подкожно, что делает эту сыворотку сопоставимую по качеству с лошадиной. Однако в большинстве случаев противорожистая сыворотка, полученная от волов, уступает по качеству сыворотке из крови лошади [34].

Сывороточные препараты, полученные из крови волов-продуцентов, демонстрируют высокую эффективность при лечении заболеваний крупного рогатого скота. Так, сыворотка против некробактериоза показала высокую эффективность (94,7—100 %) при профилактике и лечении животных в хозяйствах, неблагополучных по этому заболеванию [37].

Таким образом, лошади и волы составляют основной пул продуцентов лечебно-профилактических сывороток медицинского и ветеринарного назначения [7, 26, 23] (табл. 1). Другие виды животных в этом сегменте используются по большей части в научных исследованиях, которые не подразумевают дальнейшего полномасштабного производства препарата.

Продуценты диагностических сывороток

В настоящее время медицинская и ветеринарная отрасли располагают широким спектром диагностических препаратов на основе иммунных сывороток различных видов млекопитающих. Сравнительный анализ производства диагностических препаратов такого профиля в Российской Федерации показал, что основной выбор продуцентов был сделан в пользу мелких животных — кроликов. Этот выбор обусловлен рядом преимуществ: кролики обладают высокой иммунологической реактивностью на введение различных видов антигенов, что позволяет в короткие сроки получать сыворотку с большим запасом активности; они удобны в плане содержания, кормления, ухода, лечения, обновления поголовья.

Для производства сывороток в основном используют половозрелых животных со сформировавшейся нервной системой. Федорович М. И. отдает предпочтение 10—12-месячным кроликам [36]. Многие исследователи при изучении продукции специфических антител пришли к выводу, что наибольшие титры специфических антител определяются в сыворотках животных весом 2,0—3,0 кг [17].

Таблица 1

Животные-продуценты лечебно-профилактических сывороточных препаратов медицинского и ветеринарного назначения, производимых в Российской Федерации

Препараты	Продуцент
1	2
Медицинские	
Производитель ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»	
Иммуноглобулин антирабический из сыворотки крови лошади жидкий	Лошадь
Производитель ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» МО	
Иммуноглобулин противосибиреязвенный	Лошадь
128,662 мм АО НПО «Микроген»	
Сыворотки противоботулинические, противодифтерийная, противостолбнячная, противогангренозная, против яда гадюки обыкновенной	Лошадь
Ветерина128,662 ммрные	
Производитель ФКП «Орловская биофаб128,662 ммрика»	
Сыворотка и глобулин противосибиреязвенные	Лошадь
Производитель ФКП «Армавирская б128,662 ммиофабрика»	
Сыворотка против рожи свиней	Свинья, вол
Сыворотка против пастереллеза крупного рогатого, овец и свиней	Вол
Сыворотка против пастереллеза, сальмонеллеза, эшерихиоза, парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота	Вол
Сыворотка антитоксическая поливалентная против сальмонеллеза телят, поросят, ягнят, овец и птиц	Вол
Сыворотка антиадгезивная антитоксическая против эшерихиоза сельскохозяйственных животных	Вол
Сыворотка «Иммуносерум» для лечения и профилактики вирусных пневмоэнтеритов телят	Вол
Сыворотка против вирусной геморрагической болезни кроликов	Кролик
Производитель ООО «Ветбиохим»128,662 мм	
Сыворотка поливалентная против чумы плотоядных, парвовирусного, коронавирусного энтеритов и аденовирусных инфекций собак «ГИСКАН-5»	Лошадь
Сыворотка гипериммунная против лептоспироза собак	Лошадь
Иммуноглобулин поливалентный против чумы плотоядных, парвовирусного, коронавирусного энтеритов и аденовирусных инфекций собак «ГЛОБКАН-5»	Лошадь
Глобулин против панлейкопении, инфекционного ринотрахеита, калицивироза и хламидиоза кошек «ГЛОБФЕЛ-4»	Лошадь

Окончание табл. 1

1	2
Производитель ООО «фирма НПВ и ЗЦ»128,662 мм	
Сыворотка гипериммунная против чумы плотоядных, инфекционного гепатита и парвовирусного энтерита собак «Иммуновет 3-сн»	Лошадь
Иммуноглобулин против чумы плотоядных, инфекционного гепатита и парвовирусного энтерита собак «Иммуновет 3-ин»	Лошадь
Иммуноглобулин для профилактики и лечения панлейкопении кошек «Иммуновет 1-ин»	Лошадь
Производитель ООО «ТД «БиАгро» 128,662 мм 128,662 мм	
Сыворотка поливалентная против чумы, парвовирусного энтерита и аденовирусных инфекций собак «Владикан»	Лошадь

Для диагностики вибриоза в Черноморском и Балтийском регионах от кроликов-продуцентов весом 2,5—3,0 кг получены агглютинирующие сыворотки, обладающие высокой активностью к гомологичной культуре штамма *Vibrio anguillarum* и специфичностью к гетерологичным культурам и их формалинизированным антигенам [5]. Кроличья иммунная сыворотка была с успехом использована при разработке биопрепаратов для лабораторной диагностики бордетеллезной инфекции [6]. Тихвинская О. В. с соавт. сконструировали «Иммунодиагностикум для выявления и идентификации типичных и атипичных (безкапсульных) форм возбудителя чумы» на основе сывороток кроликов [31]. Красиков А. П. с соавт. при диагностике лихорадки Ку крупного рогатого скота применяли сыворотку гипериммунизированных кроликов [19]. Карбышев Г. Л. с соавт. при разработке препарата для серологической диагностики легионеллеза использовали кроликов породы шиншилла как продуцентов иммунной сыворотки [16].

При конструировании моноспецифической сыворотки к рекомбинантному белку p30 для изучения африканской чумы свиней и для изготовления капсульно-протективной противосибиреязвенной сыворотки был сделан выбор в пользу кроликов-продуцентов массой до 3,0 кг породы шиншилла [10, 15]. В экспериментах по получению моноспецифических О-сывороток для диагностики *Yersinia enterocolitica* использовали также кроликов-продуцентов и в течение 18 суток были выделены иммунные сыворотки с титрами специфических агглютининов, пригодных для серотипирования возбудителя [12].

Благодаря подобранным оптимальным схемам иммунизации животных-продуцентов, были получены активные кроличьи сывороточные препараты против антигенов *Y. pseudotuberculosis* 3704 O:1b [13]. Хаптанова Н. М. с соавт. получили высокоэффективную листериозную кроличью сыворотку, обладающую высокой диагностической чувствительностью к *Listeria monocytogenes* и специфичностью в отношении близкородственных и гетерологичных микроорганизмов [37].

Исходя из представленных выше данных, можно сделать вывод, что в современном производстве диагностических сывороточных препаратов большое распространение в качестве животных-продуцентов получили кролики породы «Советская шиншилла». Данная порода обладает высокой иммунореактивностью, плодовитостью, неприхотливостью, выносливостью, хорошо приспособлена к разведению в различных климатических условиях, распространена повсеместно в России. Благодаря этим критериям можно производить большой пул диагностических сывороточных препаратов для выявления возбудителей инфекционных болезней.

В рамках реализации масштабного производства используют крупных животных-продуцентов: верблюдов, лошадей, ослов, баранов, коз.

Так, Кулаков М. Я. с соавторами использовали коз для получения эритроцитарного антигенного гистоплазмозного и кокцидиомикозного диагностикума [20]. При изготовлении агглютинирующих сывороток против кишечно-тифозной группы бактерий Федорович М. И. была использована иммунная кровь лошадей, коз и баранов [36].

В производстве S-бруцеллезной диагностической сыворотки наиболее эффективно применялись быки-продуценты [3].

Группа исследователей (Аленкина Т.В с соавт., 2010) использовала лошадей-продуцентов русской рысистой породы и баранов-продуцентов цыгайской породы 2-летнего возраста при производстве диагностической чумной антифаговой сыворотки. Авторами было показано, что после двухгодовой иммунизации баранов-продуцентов с введением антигена по соответствующей схеме, уровень специфических антител достигал значения, соответствующего требованиям нормативной документации для получения диагностического препарата, и составлял 1 : 200. Дальнейшая гипериммунизация продуцентов приводила к увеличению антифагинов в иммунной сыворотке в два раза. Исследователи отмечали, что при иммунизации лошадей-продуцентов титр специфических антител достигал нормированного уровня через 1—1,5 года и напрямую зависел от индивидуальной иммунореактивности. Максимальный уровень антифагинов у лошадей составлял, как правило, 1 : 300 и лишь у редких продуцентов достигал значения 1 : 500, что превышало нормированный показатель более чем в 2 раза. По заключению авторов, диагностическая чумная антифаговая сыворотка, изготовленная из гипериммунных сывороток баранов-продуцентов, может применяться наряду с сывороткой диагностической чумной антифаговой, полученной из крови лошадей-продуцентов [1].

Что касается требований, предъявляемых к животным-продуцентам диагностических сывороток (порода, возраст, вес, пол, состояние здоровья), то они аналогичны тем, которые предъявляют к животным, предназначенным для производства лечебно-профилактических иммунобиологических лекарственных препаратов на основе гипериммунных сывороток. Особое внимание исследователи обращают на состояние упитанности животных. Так, было показано, что от лошадей со средней упитанностью была получена агглютинирующая дизентерийная сыворотка с титрами специфических антител в 5 раз выше, чем от животных с низкой упитанностью [36].

В некоторых случаях для получения специфических диагностических сывороток используют мелких непродуктивных животных. Урюмцева Т. И. с соавт. для получения иммунных сывороток для серодиагностики инфекционного гепатита собак в качестве объекта для гипериммунизации использовала щенков беспородных собак в возрасте 2—3 месяцев и беспородных кроликов в возрасте 3 месяцев [33]. Установлено, что средние значения титров специфических антител в сыворотках иммунизированных щенков были на порядок выше аналогичных значений кроличьих препаратов.

Для получения гипериммунных сывороток к респираторно-синцитиальному вирусу крупного рогатого скота, в качестве продуцентов были испытаны белые мыши линии BALB/C, морские свинки, бараны и кролики. Отмечено, что иммунные сыворотки, полученные от белых мышей и морских свинок, демонстрировали уровни специфических антител ниже нормируемых показателей. В связи с этим для получения полуфабрикатов диагностического препарата авторы отдают предпочтение продуцентам кроликам и баранам. При этом были выделены иммунные продукты с показателями специфической активности в реакции нейтрализации (5,38 ± 0,16) lg2 и (6,08 ± 0,09) lg2 соответственно, что определяло пригодность полученных сывороток для дальнейшей работы [29].

В таблице 2 приведен перечень медицинских и ветеринарных диагностических препаратов на основе сывороток животных-продуцентов.

Таблица 2

Животные-продуценты диагностических сывороточных препаратов медицинского и ветеринарного назначения, производимых в Российской Федерации

Препараты	Продуцент
1	2
Медицинские	
Производитель ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»	
Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие чумные и псевдотуберкулезные	Лошадь

Продолжение табл. 2

1	2
Иммуноглобулины диагностические чумные и псевдотуберкулезные для РА на стекле	Лошадь
Сыворотка чумная антифаговая	Лошадь, баран
Сыворотка диагностическая холерная О1, RO, Огава и Инаба для РА	Лошадь
Сыворотка диагностическая холерная не О1 группы О139 для РА на стекле	Кролик
Иммуноглобулины диагностические О1 флуоресцирующие холерные адсорбированные лошадиные	Лошадь
Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие холерные О139 адсорбированные кроличьи	Кролик
Производитель АО «Биомед» им. И. И. Мечникова	
Сыворотки и иммуноглобулины диагностические, эшерихиозные	Кролик
Производитель ФНЦИиРИП имени М. П. Чумакова РАН	
Сыворотки диагностические энтеровирусные моновалентные сухие для РН	Кролик, баран
Производитель ФГУП «Санкт-Петербургский НИИ вакцин и сывороток и предприятие по производству бактерийных препаратов»	
Сыворотка диагностическая сальмонеллезная ПЕТСАЛ	Кролик, баран
Сыворотки диагностические шигеллезные АГНОЛЛА	
Сыворотки диагностические менингококковые МЕНГРУВИД	Кролик
Производитель ФГБУ «НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи»	
Сыворотки диагностические коклюшные и паракоклюшные для РА	Кролик
Производитель АО НПО «Микроген»	
Иммуноглобулин диагностический оспенный люминесцирующий сухой	Кролик
Иммуноглобулины диагностические для выявления риккетсий группы сыпного тифа люминесцирующие	Лошадь
Диагностикум эритроцитарный к вирусу клещевого энцефалита иммуноглобулиновый крысиный сухой для РНГА	Баран, крыса
Производитель ФГБУ «НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи»	
Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие туляремийные	Кролик
Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие бруцеллезные сухие	Кролик
Производитель ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора	
Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие сибиреязвенные вегетативные адсорбированные сухие	Кролик

Окончание табл. 2

1	2
Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие сибиреязвенные споровые адсорбированные сухие	Кролик
Производитель ФБУН НИИЭМ имени Пастера	
Сыворотки диагностические к Yersinia enterocolitica О-моновалентные	Кролик
Ветеринарные	
Производитель Покровский завод биопрепаратов	
Набор компонентов для диагностики бруцеллеза животных в РА, РСК, РДСК	Вол
Производитель ФКП «Армавирская биофабрика»	
Сыворотки О-коли агглютинирующие и групповые агглютинирующие лептоспирозные	Кролик
Производитель ФКП «Орловская биофабрика»	
Сыворотка сибиреязвенная преципитирующая	Лошадь
Производитель ФКП «Курская биофабрика-фирма «БИОК»	
Сыворотка сапная для реакции связывания комплемента	Лошадь
Наборы сывороток сальмонеллезных О-комплексных и монорецепторных О- и Н-агглютинирующих	Кролик
Сыворотки антитоксические C. perfringens типов A, C, D диагностические	Овца
Производитель ФГБНУ ВНИТИБП	
Глобулин флуоресцирующий для диагностики бешенства животных	Овца
Производитель ФКП «Щелковский биокомбинат»	
Тест-система для диагностики бруцеллеза животных в РБП, РА, РСК и РДСК, КР с молоком	Вол

Таким образом, препараты на основе сывороток различных животных-продуцентов являются высоковостребованными в диагностике и комплексной терапии ряда инфекционных болезней человека и животных, а также в качестве средства экстренной профилактики, представляя собой подчас единственное эффективное средство.

В настоящее время, благодаря 130-летнему опыту эксплуатации животных-продуцентов, у разработчиков и производителей сывороточных препаратов есть возможность оптимального выбора продуцента, что позволяет наряду с обеспечением качества препаратов рационально подходить к вопросу повышения рентабельности производства.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Аленкина Т. В.*, *Красичков Г. Г.*, *Фомина Г. М.*, *Лобовикова О. А.*, *Миронова Н. П.*, *Пуденкова О. С.*, *Никифоров А. К.*, *Саяпина Л. В.*, *Малахаева А. Н.* Сравнительная характеристика сывороток диагностических чумных антифаговых, полученных от разных видов продуцентов. Проблемы особо опасных инфекций. 2010; 106: 58—61.

2. *Аленкина Т. В.*, *Бочкарева Г. В.*, *Саяпина Л. В.*, *Касина И. В.*, *Шульгина И. В.*, *Лобовикова О. А.*, *Абрамова Е. Г.*, *Громова О. В.*, *Никифоров А. К.* Разработка и основные этапы внедрения препарата «Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие холерные О139». Проблемы особо опасных инфекций. 2012; 113: 74—78.

3. *Аракелян П. К.*, *Разницына Г. В.*, *Гауст Н. Ф.*, *Димов С. К.*, *Димов К. С.* Эффективная схема получения S-бруцеллезной диагностической сыворотки. Достижения науки и техники АПК. 2014; 7: 51—52.

4. *Архипов У. А.*, *Арустамов Д. Л.*, *Уразметов К. Г.* Ослиная антисыворотка против лимфоцитов человека и собак. Экспериментальная хирургия и анестезиология. 1970; 3:7.

5. *Безгачина Т. В.* Идентификация возбудителя вибриоза-культура штамма Vibrio anguillarum с применением современных серологических методов диагностики бактериальных заболеваний. Труды ВНИРО. 2010; 148: 120—125.

6. *Васильева Ю. Б.* Конструирование биопрепаратов для лабораторной диагностики бордетелезной инфекции. Вестник ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 25—29.

7. *Верховский О. А.*, *Алипер Т. И.*, *Черных О. Ю.*, *Непоклонов Е. А.* Стратегия иммунотерапии и перспективы использования поликлональных антител в клинической практике (обзор). Режим доступа http://www.dpri.ru/article/article-immunotherapy.php.

8. *Волик Е. К.* О рациональных методах эксплуатации и кормления продуцентов иммуносывороток. Труды ГНКИ ветеринарных препаратов. Том 5. Москва, гос. изд-во с. — х. лит-ры; 1953: 257—268.

9. *Гайдамович С. Я.*, *Львова А. Ш.*, *Обухова В. Р.*, *Мельникова Е. Э.* Антиген к арбовирусам в асците иммунизированных мышей. Вопросы вирусологии. 1969; 6: 676.

10. *Галиуллин А. К. Задорина И. И.*, *Иванова С. В.*, *Мельникова Л. А.* Получение капсульно-протективной противосибиреязвенной сыворотки. Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. 2019; 237(1): 44—47.

11. *Гефан Н. Г.*, *Андреевская Н. М.*, *Климов В. Т.*, *Каретникова Э. С.* Моноспецифические О-сыворотоки для диагностики Yersinia enterocolitica. Медицинская иммунология. 1999; 3—4: 56—57

12. *Жарникова И. В.*, *Тюменцева И. С.*, *Алиева Е. В.*, *Таран А. В.*, *Жданова Е. В.*, *Юркина И. В.* Разработка и применение иммуноглобулинов диагностических флуоресцирующих для выявления возбудителей кампилобактериоза, лептоспироза. Медицинский вестник Северного Кавказа. 2006; 1: 12—14.

13. *Загоскина Т. Ю.*, *Марков Е. Ю.*, *Андреевская Н. М.*, *Климов В. Т.*, *Николаев В. Б.*, *Крюкова А. В.*, *Игумнова С. В.*, *Долгова Т. М.*, *Гаврилова О. В.*, *Колесникова В. Ю.*, *Чеснокова М. В.*, *Попова Ю. О.*, *Балахонов С. В.* Получение гипериммунных псевдотуберкулезных сывороток. Микробиология и вирусология. 2021; 3: 86—94.

14. *Зиняева Р. А.* Анализ эффективности эксплуатации лошадей-продуцентов противостолбнячной сыворотки с использованием некоторых методов математической статистики. Дис. … канд. мед. наук. Томск, 1969.

15. *Казакова А. С.*, *Варенцова А. А.*, *Першин А. С.*, *Белянин С. А.*, *Южук Т. Э.*, *Лыска В. М.*, *Живодеров С. П.*, *Власова Н. Н.* Моноспецифическая сыворотка к рекомбинантному белку p30 для изучения африканской чумы свиней (АЧС). Научный журнал КубГАУ. 2011; 71(07): 1—15.

16. *Карбышев Г. Л.*, *Терентьев А. Н.*, *Веркина Л. М.*, *Наркевич А. Н.*, *Безуглова Е. В.*, *Симонова И. Р.*, *Кочеткова А. П.* Конструирование препарата для серодиагностики легионеллеза. Проблемы особо опасных инфекций. 2005; 90: 55—57.

17. *Карпов С. П.*, *Прегер С. М.*, *Синельников Г. Е.*, *Федоров Ю. В.* Гипериммунные сыворотки. Томск, Изд-во ТГУ, 1976; 380 с.

18. *Комарова К. А.* Современное состояние агробиологической промышленности Российской Федерации. Вестник государственного и муниципального управления. 2014; 4(15): 79—84.

19. *Красиков А. П.*, *Заболотных М. В.*, *Рудаков Н. В.* Эколого-эпизоотологическая характеристика и лабораторная диагностика лихорадки Ку крупного рогатого скота по материалам изучения в Омской области. Вестник Омского ГАУ. 2017; 4(28): 158—162.

20. *Кулаков М. Я.*, *Лесовой В. С.*, *Новицкая И. В.*, *Липницкий А. В.*, *Пушкарь В. Г.* Способ получения эритроцитарного антигенного гистоплазмозного и кокцидиомикозного диагностикума. Патент на изобретение № 2422 832. Опубл. 25.01.2010 г.

21. *Лукин Ю. Б.* Влияние некоторых физиологических особенностей лошадей-продуцентов и качества антигена на титр противостолбнячной сыворотки. Дис. … канд. мед. наук. Уфа, 1956.

22. *Нефедьев А. И.* Получение и применение гипериммунной сыворотки при паратифе овец. Труды ГНКИ ветеринарных препаратов. Том 5. М.: гос. изд-во с. — х. лит-ры; 1953: 317—330.

23. *Перелыгина О. В.*, *Комаровская Е. И.*, *Мухачева А. В.*, *Саяпина Л. В.*, *Обухова Ю. И.*, *Бондарев В. П.* Гетерологичные сывороточные препараты в практике современной медицины. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2017; 17(1):41—47.

24. *Петров Ю. К.* О некоторых особенностях изготовления поливалентных противогриппозных сывороток. В кн.: Вопросы производства лечебных сывороток. М.: Медгиз,1965; с. 85.

25. *Роньжина С. Д.* Некоторые наблюдения по производству противодифтерийной сыворотки. Труды Томского НИИВС. 1959; 10: 184.

26. *Саяпина Л. В.*, *Гаврилова Н. А.*, *Никитюк Н. Ф.*, *Обухов Ю. И.*, *Бондарев В. П.* К вопросу о применении в практическом здравоохранении гетерологичных препаратов. Проблемы особо опасных инфекций. 2018; 3:40—45.

27. *Слободской Р. М.* Рациональный метод производства противостолбнячной сыворотки. Дис. … канд. мед. наук. Томск, 1959.

28. *Стрельникова Л. А.* Материалы по изготовлению антирабичекой сыворотки и специфического гамма-глобулина. Дис. … канд. мед. наук. Томск, 1971.

29. *Строганова И. Я.* Биологические системы для получения специфических гипериммунных сывороток к респираторно-синцитиальному вирусу КРС. Вестник КрасГАУ. 2012; 6: 127—129.

30. *Сусский Е. В.*, *Глушенкова Ю. А.*, *Телишевская Л. А.*, *Ласкавый В. Н.*, *Ночевная Т. В.* Совершенствование технологии производства и обеспечение качества сывороточных препаратов против рожи свиней. Ветеринария Кубани. 2018; 6: 5—7.

31. *Тихвинская О. В.*, *Елагин Г. Д.*, *Пятков В. А.*, *Живов И. В.*, *Кутаев Д. А.* Конструирование иммунодиагностикума для выявления и идентификации типичных и атипичных (бескапсульных) форм возбудителя чумы. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2010; 2(51): 37—40.

32. *Тюменцева И. С.*, *Афанасьев Е. Н.*, *Курчева С. А.*, *Жарникова И. В.*, *Жданова Е. В.*, *Семирчева А. А.*, *Кошкидько А. Г.* Разработка иммунодиагностических препаратов для детекции возбудителя чумы (капсульной и бескапсульной форм). Эпидемиология ВНИСО. 2020; 4(325): 64—68.

33. *Урюмцева Т. И.* Получение иммунных сывороток для серодиагностики инфекционного гепатита собак. Электронный научно-методический журнал Омского ГАУ. 2019; 1(16) январь-март. Режим доступа http://e-journal.omgau.ru/images/issues/2019/1/00 701.pdf.

34. *Федоров А. К.* Опыт получения противорожистой сыворотки. Труды ГНКИ ветеринарных препаратов. Том 5. М.: гос. изд-во с.-х. лит-ры; 1953: 427—431.

35. *Федоров Ю. В.* Непрерывная гипериммунизация лошади в практике производства сыворотки против клещевого энцефалита. Вопросы медицинской вирусологии. 1963; 8: 113.

36. *Федорович М. И.* Методика изготовления и хранения диагностических сывороток. Дис. … канд. мед. наук. Томск. 1950.

37. *Хаптанова Н. М.*, *Андреевская Н. М.*, *Коновалова Ж. А.*, *Гефан Н. Г.*, *Лукьянова С. В.*, *Остяк А. С.*, *Карцев Н. Н.*, *Борзенков В. Н.*, *Балахонов С. В.* Получение и оценка эффективности диагностической агглютинирующей сыворотки для идентификации возбудителя листериоза. Известия Иркутского государственного университета. Серия «Биология Экология». 2021; 37: 43—53

38. *Ярцев С. Н.*, *Мельник Р. Н.*, *Мельник Н. В.*, *Маклецова Е. А.*, *Колпикова О. А.*, *Захарова Е. М.*, *Сусский Е. В.*, *Колесниченко И. С.* Оптимизация производства гипериммунной сыворотки против некробактериоза животных и ее эффективность. Ветеринария. 2022; 2: 30—34.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Р. А. Свинцов — кандидат ветеринарных наук, научный сотрудник;

И. В. Шамин — младший научный сотрудник;

Е. Г. Абрамова — доктор биологических наук, главный научный сотрудник;

А. В. Разживин — младший научный сотрудник;

М. В. Овчинникова — кандидат биологических наук, зав. отделом;

А. К. Никифоров — доктор биологических наук, зам. директора по экспериментальной и производственной работе.

Статья поступила в редакцию 01.08.2022 г.

Original acticle
UDC557.083.223:615.2

ANIMALS PRODUCERS IN THE PRODUCTION OF THERAPEUTIC AND DIAGNOSTIC SERUM DRUGS

Roman Aleksandrovich Svintsov[*]✉, Ilya Vladimirovich Shamin[*], Elena Gennadyevna Abramova[*, **], Aleksey Vladimirovich Razzhivin[*], Mariya Vladimirovna Ovchinnikova[*], Aleksey Konstantinovich Nikiforov[*, **]

[*]Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe» of the Federal Service for Surveillance on Consumers Rights Protection and Human Wellbeing, Saratov, Russian Federation
[**]Saratov State Agrarian University named after N. I. Vavilov» of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation, Saratov, Russian Federation, roman-sv@mail.ru✉

Abstract. The optimal choice of a producer animal for the production of serum drugs is one of the important tasks, without which it is impossible to obtain a product of an adequate quality with a minimum cost. The review presents the accumulated experience in the selection and operation of animals producers in the production of serum drugs for medical and veterinary use. A brief historical background on the development of the direction of applied immunology, called serum business, is given in the context of the exploitation of various animals producers. The characteristics of the main producers of therapeutic and diagnostic sera are also presented. Their physiological characteristics, such as breed, age, gender and the effect they have, first of all on the immunological reactivity of the producer and the ability for long-term exploitation, are considered. For a number of animals producers, the data of species comparison in obtaining specific drugs are given. A list of Russian therapeutic and diagnostic serum drugs for medical and veterinary purposes and their producers is given.
Keywords: animals producers, therapeutic sera, immunoglobulins, diagnostic sera, serum drugs

One of the indicators of the immune system functioning in animals is the ability to produce specific antibodies in the blood in response to exposure to antigens. This property underlies the production of various specific serum drugs from the blood of animals producers of therapeutic and diagnostic profiles. Currently, a fairly rich experience has been accumulated, indicating the possibility of using animals of various species to obtain specific sera.

The production of therapeutic sera is characterized by large volumes of products that leads to the production of mainly large animals (horses, oxen, cows, mules), since large amounts of immune blood can be obtained from them. In the manufacture of diagnostic sera, where the volume of output is small, the producers are mainly sheep, goats, rabbits, guinea pigs, rats and mice [17].

The optimal choice of a producer animal for the production of serum drugs is one of the important tasks, without which it is impossible to obtain a product of an adequate quality with a minimum cost. Among the factors that determine the choice of a producer, the following can be distinguished: the immunological reactivity of an animal to a particular antigen, the planned volumes of products, the cost of keeping a given type of animal, the convenience of rearing for producers and carrying out technological manipulations with them, the availability of a replenishment base for animals producers with the required qualities (breed, age, weight, gender, health status, etc.).

The objective of the review is to update the accumulated experience in the selection and use of animals producers in the production of serum drugs for medical and veterinary use. If we turn to history, at the dawn of the development of the direction of applied immunology, called the serum business, the researchers involved in the experiments the widest range of animals. Thus, in 1890, E. Behring and S. Kitasato, immunizing rabbits with tetanus toxin and guinea pigs with diphtheria toxin, revealed the appearance of antitoxic properties in the blood serum of these animals. In 1891, E. Behring (Germany) was the first to obtain therapeutic anti-tetanus serum from horses, and the following year, anti-diphtheria serum also from horses. Later (1895—1897) horses served as producers for the production of antidiphtheria serum in Russia.

© Svintsov R. A., Shamin I. V., Abramova E. G., Razzhivin A. V., Ovchinnikova M. V., Nikiforov A. K., 2022

In 1891, V. Babes and R. Archez successfully used the serum of immunized dogs for post-exposure prophylaxis of rabies in humans bitten by a sick wolf. In 1893, G. Tizzoni and E. Centanni used sheep as producers to produce anti-rabies serum, and in 1905, A. Marie obtained active anti-rabies serum from rabbits and rams [17].

At the beginning of the 20th century, successful experiments were carried out to obtain active immune sera against a number of bacterial and viral infections from various animals producers. So P. V. Sizov received pasteurellous serum from cattle; M. Weinberg made a serum against anaerobic clostridial (gas) infection from immune raw materials from sheep and horses; S. Flexner, P. Lewis, A. Petit, working with goats, sheep and horses, have received a serum that neutralizes the polio virus in sufficiently high concentrations.

In 1959, B. Weinberg used ground squirrels as producers for the manufacture of typhoid agglutinating serum, and Yu.K. Petrov and Z. G. Peisel in 1961 used pigs to produce type-specific anti-influenza sera [24].

At the end of the sixties of the last century, there were developed the methods for the manufacture of antilymphocyte serum from immune raw materials from goats, donkeys and horses [4]. At the same time, there were developing the studies on the production of antibody-containing ascitic fluids, where white mice and rats acted as producers [9].

As can be seen from the above, to obtain specific sera, a variety of animals can be successfully used, which first of all have a pronounced immunological reactivity to one or another antigen.

Then we will consider in more detail the criteria for selecting the most popular animals for using as producers of therapeutic and diagnostic sera.

Producers of therapeutic sera

The most preferred producers of therapeutic sera are large animals such as horses, cattle, mules. They can provide large quantities of immune raw material for production, thus providing significant volumes of products. Horses are considered the main producers due to a number of advantages. Firstly, horses are highly reactive animals from an immunological perspective. They quickly begin to produce specific antibodies in the titers required for production. Secondly, horses are convenient in terms of keeping, feeding and carrying out work with them related to immunization and blood sampling. In addition, the largest volumes of blood, and accordingly the target product can be obtained from horses [17].

One of the most important moments that ensure the success of serum production is the selection of horses producers, since the immunological reactivity and duration of animal exploitation are different and depend on a number of physiological characteristics, and primarily on breed, age and gender.

The breed of horses producers is of no small importance and largely determines the success of immunization and exploitation. Slobodskoy R. M. conducted observations on horses of improved (crossbred with the Orlov Trotter), Don and Arabian breeds and outbreds immunized with tetanus toxoid [27]. It has turned out that the first three groups of horses are able to produce high titer antitoxins and keep it at this level for a long time. As for outbred horses, after raising the titer to 600—700 AU, after 5—6 cycles of immunization, serum activity sharply decreased in a significant part of the producers and the horses became unsuitable for further exploitation. Yu.B. Lukin received anti-tetanus serum with a high titer when using horses belonging to the heavy Arden breed [21].

In the study of Zinyaeva R. A. it was shown that the yield of tetanus toxoid in the horses of the Don breed was 96 % [14]. The author found that horses of the Kazakh improved breed in 89 % of cases became active producers, and 85 % — after the 1st cycle of immunization. Horses of the Arabian breed also had an output of up to 90 % as producers. A relatively low yield of producers was noted in horses from Tomsk region (72 %) and in the local Kazakh breed (71 %).

The most profitable producers of antidiphtheria serum were horses of the improved Anglo-Don and Don breeds, and animals of the Kabardian, Mongolian breeds and outbred animals were used as producers much less often [25].

In the 20th century, Tomsk Research Institute of Vaccines and Sera carried out studies on the effect of the breed on the level of formation of virus-neutralizing antibodies in the blood of horses producing serum against tick-borne encephalitis. It was established that animals of the Don breed turned out to be the most immunologically reactive, then — improved ones (a mixture of outbred horses with the Oryol Trotters), and outbred horses turned out to be less reactive [35].

Strelnikova L. A. indicates that during anti-rabies immunization, the best producers were horses from Tomsk region (73 %), followed by the Kazakh horse, improved by the Don or Budennov breeds (57 %), and the Kazakh local improved breed (47 %) turned out to be weakly reactive [28].

Frid S. M. and Zibitsker D. H. conducted research on the effect of the age of producers on the activity of

the immune raw material obtained from them. Horses producing antidiphtheria serum were divided into 4 age groups: group 1 — up to 6 years old inclusive, group 2 — from 7 to 12 years old, group 3 — from 13 to 18 years old and group 4 — from 19 years old and above. After analyzing the data, the authors came to the conclusion that the accumulation of antibodies is directly dependent on the age of the producers. Thus, sera with an antitoxin titer from 654 to 561 AU were obtained from the first 3 groups, while the titer of sera from the producers of the fourth age group was 397 AU [17].

It has been established that the most immunologically reactive animals are horses aged 2—5 years, which became producers of tetanus toxoid in most cases already in the 1st cycle of exploitation, and the increase in antitoxin in the sera of animals older than 6 years was much slower [14]. At the same time Fedorov Yu.V. indicates that horses aged 6—9 years have the highest immunological reactivity to tick-borne encephalitis virus [35].

Despite the available data on the successful use of foals as producers of immune sera, veterinarians agree that it is advisable to take horses aged 3 years or more as producers, since by this age the animals reach physiological maturity and the body more easily tolerates immunization and abundant bloodletting.

Zinyaeva R. A. made an analysis of the effect of gender on the intensity of antitoxin formation in 1074 horses producing tetanus toxoid over a period of 16 years [14]. Among the producers, there were 506 mares (47 %), 512 stallions (48 %) and 56 geldings (5 %). It has been established that mares and geldings had a greater immunological reactivity to tetanus toxoid. Most of them even in the first cycle of exploitation became producers.

For more than 20 years, FPSE «Russian Anti-Plague Institute «Microbe» (Saratov) has been producing an immunobiological drug for post-exposure prophylaxis of rabies in humans «Liquid Anti-Rabies Immunoglobulin from Horse Blood Serum». Since the production was already planned to be large-scale, in order to provide medical institutions throughout the country with this drug, a horse was chosen as a producer due to its high immunological reactivity to rabies antigen and the possibility of obtaining a large amount of immune raw material.

Experience in the production of heterologous anti-rabies immunoglobulin at the Institute «Microbe» confirms the longer exploitation of thoroughbred horses (Russian Trotter, standard-bred, Budennovskaya), compared to local outbred horses from commercial farms of Saratov region. Currently, horses aged 3 or more years are selected for work as the most enduring in exploitation. By gender, the distribution is as follows: mares make up an average of 70—75 %, geldings and stallions — 25—30 % of the total livestock. The prevalence of mares is explained by the convenience of keeping, especially during group walking, while stallions due to their temper require individual walking and keeping.

In addition to horses, in the Russian Federation, in the manufacture of veterinary serum drugs, cattle (mainly of the Red Steppe breed) is actively used as producers of immune sera [22, 30]. Gender preferences when choosing producers are unequivocal here — oxen (castrated bulls) are exploited as producers [8, 22, 30, 34, 37]. The main advantage is the convenience of keeping and carrying out technological manipulations with oxen, in comparison with bulls and cows.

As in the case of horses producers, when selecting oxen, preference is also given to animals that have reached physiological maturity (at least 2 years) and weigh at least 400 kg [30, 37]. From such producers, the maximum intake of immune blood is possible, in addition, they are more enduring, compared to young or old animals.

The exploitation of oxen producers, according to a number of studies, has a number of advantages over other animal species. So, according to the material of E. K. Volik, the service life of oxen producing immune sera is longer. A particularly long service life is observed in oxen producers of anti-paratyphoid and anti-pasteurellous sera, where the average service life reaches 6—7 years. Amyloid degeneration of the liver and other parenchymal organs, which accompanies the exploitation of horses producing a number of sera, is usually not observed in oxen. However, in the production of anti-anthrax and anti-erysipelas sera, oxen as producers cannot replace horses, since they provide a less active serum [8].

Nefedyev A. I. reports that serum against sheep paratyphoid with equivalent therapeutic properties was obtained both from oxen of the steppe breed and from the merino sheep. However, for production purposes, it is more economically feasible to exploit cattle [22].

Based on the experience of manufacturing anti-erysipelas serum, it has been established that obtaining highly active sera is achieved by using a compact scheme for hyperimmunization of oxen with a reduction in the intervals between antigen injections and an increase in subcutaneous antigen dosages that makes this serum comparable in quality to horse serum. However, in most cases, anti-erysipelas serum obtained from oxen is inferior in quality to serum from horse blood [34].

Serum drugs obtained from the blood of oxen producers demonstrate high efficacy in the treatment of diseases in cattle. Thus, serum against necrobacteriosis showed high efficacy (94.7—100 %) in the prevention and treatment of animals on farms that are unfavorable for this disease [37].

Thus, horses and oxen constitute the main pool of producers of therapeutic sera for medical and veterinary purposes [7, 26, 23] (Table 1). Other animal species in this segment are used mostly in scientific research, which does not imply further full-scale production of the drug.

Table 1

Animals producers of therapeutic serum drugs for medical and veterinary purposes produced in the Russian Federation

Drugs	Producer
1	2
Medical	
Manufacturer FPSE «Russian Anti-Plague Institute «Microbe»	
Liquid anti-rabies immunoglobulin from horse blood serum	Horse
Manufacturer FSBI «48 Central Research Institute» MR	
Immunoglobulin anti-anthrax	Horse
Manufacturer JSC SPE «Microgen»	
Anti-botulinum, anti-diphtheria, anti-tetanus, anti-gangrenous, against common viper venom	Horse
Veterinary	
Manufacturer FPE «Orel biofactory»	
Serum and globulin anti-anthrax	Horse
Manufacturer FPE «Armavir biofactory»	
Serum against swine erysipelas	Pig, ox
Serum against pasteurellosis of cattle, sheep and pigs	Ox
Serum against pasteurellosis, salmonellosis, escherichiosis, parainfluenza-3 and infectious bovine rhinotracheitis	Ox
Serum antitoxic polyvalent against salmonellosis of calves, piglets, lambs, sheep and poultry	Ox
Serum antiadhesive antitoxic against escherichiosis of farm animals	Ox
Serum «Immunoserum» for the treatment and prevention of viral pneumoenteritis in calves	Ox
Serum against viral hemorrhagic disease of rabbits	Rabbit
Manufacturer LLC «Vetbiokhim»	
Polyvalent serum against canine distemper, parvovirus, coronavirus enteritis and adenovirus infections of dogs «GISKAN-5»	Horse
Serum hyperimmune against leptospirosis in dogs	Horse

Table 1 (the end)

1	2
Polyvalent immunoglobulin against canine distemper, parvovirus, coronavirus enteritis and adenovirus infections of dogs «GLOBKAN-5»	Horse
Globulin against panleukopenia, infectious rhinotracheitis, calicivirus and chlamydia in cats «GLOBFEL-4»	Horse
Manufacturer LLC «Firm NPV and ZTs»	
Hyperimmune serum against canine distemper, infectious hepatitis and parvovirus enteritis of dogs «Immunovet 3-SN»	Horse
Immunoglobulin against canine distemper, infectious hepatitis and parvovirus enteritis of dogs «Immunovet 3-IN»	Horse
Immunoglobulin for the prevention and treatment of panleukopenia in cats «Immunovet 1-IN»	Horse
Manufacturer «Trade House BiAgro» LLC	
Serum polyvalent against plague, parvovirus enteritis and adenovirus infections of dogs «Vladikan»	Horse

Producers of diagnostic sera

Currently, medical and veterinary industries have a wide range of diagnostic drugs based on immune sera from various mammalian species. A comparative analysis of the production of diagnostic products of this profile in the Russian Federation showed that the main choice of producers was made in favor of small animals (rabbits). This choice is due to a number of advantages: rabbits have a high immunological reactivity to the introduction of various types of antigens that makes it possible to obtain serum with a large margin of activity in a short time; they are convenient in terms of keeping, feeding, care, treatment, stock renewal.

For the production of sera, sexually mature animals with a mature nervous system are mainly used. Fedorovich M. I. prefers 10—12-month-old rabbits [36]. Many researchers studying the production of specific antibodies came to the conclusion that the highest titers of specific antibodies are determined in the sera of animals weighing 2.0—3.0 kg [17].

For the diagnosis of vibriosis in the Black Sea and Baltic regions, agglutinating sera were obtained from rabbits producers weighing 2.5—3.0 kg, which have high activity against the homologous culture of the *Vibrio anguillarum* strain and specificity for heterologous cultures and their formalized antigens [5]. Rabbit immune serum has been successfully used in the development of biological drugs for the laboratory diagnosis of Bordetella infection [6]. Tikhvinskaya O. V. et al. designed the «Immunodiagnosticum for the detection and identification of typical and atypical (capsular) forms of the plague pathogen» based on rabbit sera [31]. Krasikov A. P. et al. when diagnosing Q fever in cattle, serum of hyperimmunized rabbits was used [19]. Karbyshev G. L. et al. when designing a drug for the serological diagnosis of legionellosis, chinchilla rabbits were used as producers of immune serum [16]. When constructing a monospecific serum to the recombinant p30 protein for the study of African swine fever and for the manufacture of capsular-protective anthrax serum, a choice was made in favor of rabbits producers of the chinchilla breed weighing up to 3.0 kg [10, 15]. In experiments on obtaining monospecific O-sera for the diagnosis of *Yersinia enterocolitica*, rabbits producers were also used, and immune sera with titers of specific agglutinins suitable for pathogen serotyping were isolated within 18 days [12].

Thanks to the selected optimal schemes for immunization of animals producers, active rabbit serum drugs against *Y. pseudotuberculosis* 3704 O:1b antigens were obtained [13]. Khaptanova N. M. et al. obtained a highly effective listeriosis rabbit serum with high diagnostic sensitivity to *Listeria monocytogenes* and specificity for closely related and heterologous microorganisms [37].

Based on the data presented above, it can be concluded that in the modern production of diagnostic serum drugs, rabbits of the Soviet Chinchilla breed are

widely used as animals producers. This breed has a high immunoreactivity, fertility, unpretentiousness, endurance, is well adapted for breeding in various climatic conditions, and is widespread throughout Russia. Thanks to these criteria, it is possible to produce a large pool of diagnostic serum drugs for the detection of pathogens of infectious diseases.

As part of the implementation of large-scale production, large animals producers are used, such as camels, horses, donkeys, sheep, goats. Thus, Kulakov M. Ya. et al. used goats to obtain erythrocyte antigenic histoplasmosis and coccidiomycosis diagnosticum [20]. In the manufacture of agglutinating sera against the enteric-typhoid group of bacteria, Fedorovich M. I. used immune blood of horses, goats and sheep [36].

In the production of S-brucella diagnostic serum, bulls producers were most effectively used [3].

A group of researchers (Alenkina T. V. et al., 2010) used horses producers of the Russian Trotter breed and 2-year-old rams of the Gypsy breed in the production of diagnostic plague antiphage serum. The authors showed that after a two-year immunization of rams producers with the introduction of an antigen according to the appropriate scheme, the level of specific antibodies reached a value corresponding to the requirements of regulatory documentation for obtaining a diagnostic drug and was 1 : 200. Further hyperimmunization of producers led to a twofold increase in antiphagins in the immune serum. The researchers noted that when horses producers were immunized, the titer of specific antibodies reached a normalized level after 1—1.5 years and directly depended on individual immunoreactivity. The maximum level of antiphagins in horses was as a rule 1 : 300, and only in rare producers it reached 1 : 500 that exceeded the normalized rate by more than 2 times. According to the conclusion of the authors, diagnostic plague antiphage serum made from hyperimmune sera of sheep producers can be used along with diagnostic plague antiphage serum obtained from the blood of horses producers [1].

As for the requirements for animals producing diagnostic sera (breed, age, weight, gender, state of health), they are similar to those for animals intended for the production of therapeutic and prophylactic immunobiological drugs based on hyperimmune sera. Researchers pay special attention to the state of fatness of animals. Thus, it was shown that agglutinating dysenteric serum was obtained from horses with average fatness with titers of specific antibodies by 5 times higher than from animals with low fatness [36].

In some cases, small unproductive animals are used to obtain specific diagnostic sera. Uryumtseva T. I. et al. to obtain immune sera for serodiagnosis of infectious hepatitis in dogs, mongrel dog puppies aged 2—3 months and mongrel rabbits aged 3 months were used as an object for hyperimmunization [33]. It was found that the average values of titers of specific antibodies in the sera of immunized puppies were an order of magnitude higher than those of rabbit drugs.

To obtain hyperimmune sera to bovine respiratory syncytial virus, white mice of the BALB/C line, guinea pigs, sheep and rabbits were tested as producers. It was noted that immune sera obtained from white mice and guinea pigs showed the levels of specific antibodies below normalized levels. In this regard, in order to obtain semi-finished products of a diagnostic drug, the authors prefer rabbits and sheep as producers. At the same time, immune products were isolated with indicators of specific activity in the neutralization reaction (5.38 ± 0.16) lg2 and (6.08 ± 0.09) lg2, respectively, which determined the suitability of the obtained sera for further work [29].

Table 2 lists medical and veterinary diagnostic products based on the sera of animals producers.

Table 2

Animals producers of diagnostic serum drugs for medical and veterinary purposes produced in the Russian Federation

Drugs	Producer
1	2
Medical	
Manufacturer FPSE «Russian Anti-Plague Institute «Microbe»	
Immunoglobulins diagnostic fluorescent plague and pseudotuberculous	Horse
Plague and pseudotuberculosis diagnostic immunoglobulins for RA on glass	Horse
Plague antiphage serum	Horse, ram

Table 2 (continued)

1	2
Serum diagnostic cholera O1, RO, Ogawa and Inaba for RA	Horse
Serum diagnostic cholera non O1 group O139 for RA on glass	Rabbit
Diagnostic immunoglobulins O1 fluorescent cholera adsorbed equine	Horse
Diagnostic immunoglobulins fluorescent cholera O139 adsorbed rabbit	Rabbit
Manufacturer JSC «Biomed» named after I. I. Mechnikov	
Sera and immunoglobulins diagnostic, escherichiosis	Rabbit
Manufacturer M. P. Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immunobiological Drugs of the Russian Academy of Sciences	
Sera diagnostic enteroviral monovalent dry for ROP	Rabbit, ram
Manufacturer FSUE «St. Petersburg Research Institute of Vaccines and Sera and an enterprise for the production of bacterial drugs»	
Serum diagnostic salmonella PETSAL	Rabbit, ram
Serum diagnostic shigellosis AGNOLLA	
Serum diagnostic meningococcal MENGRUVID	Rabbit
Manufacture FSBI «National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N. F. Gamaleya»	
Diagnostic sera for pertussis and parapertussis for RA	Rabbit
Manufacturer JSC SPE «Microgen»	
Immunoglobulin diagnostic smallpox luminescent dry	Rabbit
Luminescent diagnostic immunoglobulins for detecting rickettsia of the typhus group	Horse
Diagnosticum erythrocyte to tick-borne encephalitis virus immunoglobulin rat dry for RNHA	Ram, rat
Manufacture FSBI «National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N. F. Gamaleya»	
Immunoglobulins, diagnostic, fluorescent, tularemia	Rabbit
Immunoglobulins diagnostic fluorescent brucellosis dry	Rabbit
Manufacturer FPHI «Stavropol Anti-Plague Institute» of Rospotrebnadzor	
Immunoglobulins diagnostic fluorescent anthrax vegetative adsorbed dry	Rabbit
Immunoglobulins diagnostic fluorescent anthrax spore adsorbed dry	Rabbit
Manufacturer FBSE Saint-Petersburg Pasteur Institute	
Sera diagnostic to Yersinia enterocolitica O-monovalent	Rabbit

Table 2 (the end)

1	2
Veterinary	
Manufacturer Pokrovsky Plant of Biopreparations	
A set of components for the diagnosis of animal brucellosis in the RA, RSK, RDSK	Ox
Manufacturer FPE «Armavir biofactory»	
Serum O-coli agglutinating and group agglutinating leptospirosis	Rabbit
Manufacturer FPE «Orel biofactory»	
Serum anthrax precipitating	Horse
Manufacturer FPE «Kursk biofactory-firm «BIOK»	
Glanders serum for the complement fixation reaction	Horse
Serum sets of Salmonella O-complex and monoreceptor O- and H-agglutinating sera	Rabbit
Sera antitoxic C. perfringens types A, C, D diagnostic	Sheep
Manufacturer FSBSI ARR&TIBI (FGBNU VNITIBP)	
Globulin fluorescent for the diagnosis of animal rabies	Sheep
Manufacturer FPE «Shchelkovsky biofactory»	
Test system for the diagnosis of animal brucellosis in RBP, RA, RSK and RDSK, KR with milk	Ox

Thus, drugs based on the sera of various animals producers are in high demand in the diagnosis and complex therapy of a number of human and animal infectious diseases, as well as a means of emergency prevention, sometimes being the only effective remedy.

At present, thanks to 130 years of experience in the exploitation of animals producers, developers and manufacturers of serum drugs have the opportunity to choose the optimal producer, which along with ensuring the quality of drugs, makes it possible to approach rationally the issue of increasing the profitability of production.

REFERENCES

1. *Alenkina T. V., Krasichkov G. G., Fomina G. M., Lobovikova O. A., Mironova N. P., Pudenkova O. S., Nikiforov A. K., Sayapina L. V., Malakhaeva A. N.* Comparative characteristics of diagnostic plague antiphage sera obtained from different types of producers. Problemy osobo opasnykh infektsiy (Problems of particularly dangerous infections). 2010; 106:58—61.

2. *Alenkina T. V., Bochkareva G. V., Sayapina L. V., Kasina I. V., Shulgina I. V., Lobovikova O. A., Abramova E. G., Gromova O. V., Nikiforov A. K.* Development and main stages of implementation of the drug «Diagnostic fluorescent cholera Immunoglobulins O139». Problemy osobo opasnykh infektsiy (Problems of particularly dangerous infections). 2012; 113:74—78.

3. *Arakelyan P. K., Raznitsyna G. V., Gaust N. F., Dimov S. K., Dimov K. S.* Effective scheme for obtaining S-brucella diagnostic serum. Dostizheniya nauki i tekhniki APK (Achievements of science and technology of the agro-industrial complex). 2014; 7:51—52.

4. *Arkhipov U. A., Arustamov D. L., Urazmetov K. G.* Donkey antiserum against human and canine lymphocytes. Eksperimentalnaya khirurgiya i anesteziologiya (Experimental surgery and anesthesiology). 1970; 3:7.

5. *Bezgachina T. V.* Identification of the causative agent of vibriosis-culture of the Vibrio anguillarum strain using modern serological methods for diagnosing bacterial diseases. Trudy VNIRO (Proceedings of VNIRO). 2010; 148:120—125.

6. *Vasilyeva Yu.B.* Design of biological drugs for laboratory diagnosis of Bordeaux infection. Vestnik ulyanovskoy gosudarstvennoy selskokhozyaystvennoy akademii (Bulletin of Ulyanovsk State Agricultural Academy). 25—29.

7. *Verkhovskiy O. A., Aliper T. I., Chernykh O. Yu., Nepoklonov E. A.* Immunotherapy strategy and prospects for the use of polyclonal antibodies in clinical practice (review). Access mode http://www.dpri.ru/article/article-immunotherapy.php.

8. *Volik E. K.* About rational methods of exploitation and feeding of immunosera producers. Trudy GNKI veterinarnykh preparatov (Proceedings of the GNKI of veterinary drugs). Volume 5. Moscow, state publishing house of agricultural literature; 1953: 257—268.

9. *Gaydamovich S. Ya., Lvova A. Sh., Obukhova V. R., Melnikova E. E.* Antigen to arboviruses in ascites of immunized mice. Voprosy virusologii (Issues of virology). 1969; 6:676.

10. *Galiullin A. K. Zadorina I. I., Ivanova S. V., Melnikova L. A.* Obtaining capsular-protective anti-anthrax serum. Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine. N. E. Bauman. 2019; 237(1): 44—47.

11. *Gefan N. G., Andreevskaya N. M., Klimov V. T., Karetnikova E. S.* Monospecific O-sera for the diagnosis of Yersinia enterocolitica. Meditsinskaya immunologiya (Medical immunology). 1999; 3—4: 56—57

12. *Zharnikova I. V., Tyumentseva I. S., Alieva E. V., Taran A. V., Zhdanova E. V., Yurkina I. V.* Development and application of diagnostic fluorescent immunoglobulins for detection of causative agents of campylobacteriosis, leptospirosis. Meditsinskiy vestnik Severnogo Kavkaza (Medical Bulletin of the North Caucasus). 2006; 1:12—14.

13. *Zagoskina T. Yu., Markov E. Yu., Andreevskaya N. M., Klimov V. T., Nikolaev V. B., Kryukova A. V., Igumnova S. V., Dolgova T. M., Gavrilova O. V., Kolesnikova V. Yu., Chesnokova M. V., Popova Yu.O., Balakhonov S. V.* Obtaining hyperimmune pseudotuberculous sera. Mikrobiologiya i virusologiya (Microbiology and virology). 2021; 3:86—94.

14. *Zinyaeva R. A.* Analysis of the efficiency of exploitation of horses producing tetanus toxoid using some methods of mathematical statistics. Thesis … Cand. of Med. Sciences. Tomsk, 1969.

15. *Kazakova A. S., Varentsova A. A., Pershin A. S., Belyanin S. A., Yuzhuk T. E., Lyska V. M., Zhivoderov S. P., Vlasova N. N.* Monospecific serum to recombinant p30 protein for the study of African swine fever (ASF). Nauchnyy zhurnal KubGAU (Scientific journal of KubSAU). 2011; 71(07): 1—15.

16. *Karbyshev G. L., Terentyev A. N., Verkina L. M., Narkevich A. N., Bezuglova E. V., Simonova I. R., Kochetkova A. P.* Designing a drug for the serodiagnosis of legionellosis. Problemy osobo opasnykh infektsiy (Problems of particularly dangerous infections). 2005; 90:55—57.

17. *Karpov S. P., Preger S. M., Sinelnikov G. E., Fedorov Yu.V.* Giperimmunnye syvorotki (Hyperimmune sera). Tomsk, TGU Publishing House, 1976; 380 p.

18. *Komarova K. A.* Current state of the agrobiological industry of the Russian Federation. Vestnik gosudarstvennogo i munitsipalnogo upravleniya (Bulletin of State and Municipal Administration). 2014; 4(15): 79—84.

19. *Krasikov A. P., Zabolotnykh M. V., Rudakov N. V.* Ecological and epizootological characteristics and laboratory diagnosis of Q fever in cattle based on the material from a study in Omsk region. Vestnik Omskogo GAU (Bulletin of Omsk SAU). 2017; 4(28): 158—162.

20. *Kulakov M. Ya., Lesovoy V. S., Novitskaya I. V., Lipnitskiy A. V., Pushkar V. G.* Method for obtaining erythrocyte antigenic histoplasmosis and coccidiomycosis diagnosticum. Patent for invention No. 2422 832. Publ. 25.01.2010.

21. *Lukin Yu.B.* Effect of some physiological characteristics of horses producers and the quality of the antigen on the titer of tetanus toxoid. Thesis … Cand. of Med. Sciences. Ufa, 1956.

22. *Nefedyev A. I.* Obtainment and application of hyperimmune serum in paratyphoid sheep. Trudy GNKI veterinarnykh preparatov (Proceedings of GNKI of veterinary drugs). Volume 5. M.: state publishing house of agricultural literature; 1953: 317—330.

23. *Perelygina O. V., Komarovskaya E. I., Mukhacheva A. V., Sayapina L. V., Obukhova Yu.I., Bondarev V. P.* Heterologous serum drugs in the practice of modern medicine. BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie (BIOdrugs. Prevention, diagnosis, treatment). 2017; 17(1):41—47.

24. *Petrov Yu.K.* On some features of the production of polyvalent anti-influenza sera. In the book: Issues of the production of therapeutic sera. Moscow: Medgiz, 1965; p.85.

25. *Ronzhina S. D.* Some observations on the production of antidiphtheria serum. Trudy Tomskogo NIIVS (Proceedings of Tomsk NIIVS). 1959; 10:184.

26. *Sayapina L. V., Gavrilova N. A., Nikityuk N. F., Obukhov Yu.I., Bondarev V. P.* On the question of the use of heterologous drugs in practical healthcare. Problemy osobo opasnykh infektsiy (Problems of particularly dangerous infections). 2018; 3:40—45.

27. *Slobodskoy R. M.* Rational method for the production of tetanus toxoid. Thesis … Cand. of Med. Sciences. Tomsk, 1959.

28. *Strelnikova L. A.* Materials for the production of anti-rabies serum and specific gamma globulin. Thesis … Cand. of Med. Sciences. Tomsk, 1971.

29. *Stroganova I. Ya.* Biological systems for obtaining specific hyperimmune sera to bovine respiratory syncytial virus. Vestnik KrasGAU (Bulletin of KrasGAU). 2012; 6:127—129.

30. *Susskiy E. V., Glushenkova Yu.A., Telishevskaya L. A., Laskavyy V. N., Nochevnaya T. V.* Improving the production technology and ensuring the quality of serum drugs against swine erysipelas. Veterinariya Kubani (Veterinary medicine of Kuban). 2018; 6:5—7.

31. *Tikhvinskaya O. V., Elagin G. D., Pyatkov V. A., Zhivov I. V., Kutaev D. A.* Designing an immunodiagnosticum for the detection and identification of typical and atypical (non-capsular) forms of the plague pathogen. Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika (Epidemiology and preventive vaccination). 2010; 2(51): 37—40.

32. *Tyumentseva I. S., Afanasyev E. N., Kurcheva S. A., Zharnikova I. V., Zhdanova E. V., Semircheva A. A., Koshkidko A. G.* Development of immunodiagnostic drugs for the detection of the plague pathogen (capsular and non-capsular forms). Epidemiologiya VNISO (Epidemiology of VNISO). 2020; 4(325): 64—68.

33. *Uryumtseva T. I.* Obtaining immune sera for serodiagnosis of infectious hepatitis in dogs. Elektronnyy nauchno-metodicheskiy zhurnal Omskogo GAU (Electronic scientific and methodical journal of the Omsk State Agrarian University). 2019; 1(16) January-March. Access mode http://e-journal.omgau.ru/images/issues/2019/1/00 701.pdf.

34. *Fedorov A. K.* Experience in obtaining anti-erysipelas serum. Trudy GNKI veterinarnykh preparatov (Proceedings of GNKI of veterinary drugs). Volume 5. M.: state publishing house of agricultural literature; 1953: 427—431.

35. *Fedorov Yu.V.* Continuous hyperimmunization of the horse in the practice of producing serum against tick-borne encephalitis. Voprosy meditsinskoy virusologii (Issues of medical virology). 1963; 8:113.

36. *Fedorovich M. I.* Method of production and storage of diagnostic sera. Thesis … Cand. of Med. Sciences. Tomsk. 1950.

37. *Khaptanova N. M., Andreevskaya N. M., Konovalova Zh.A., Gefan N. G., Lukyanova S. V., Ostyak A. S., Kartsev N. N., Borzenkov V. N., Balakhonov S. V.* Obtainment and assessment the efficacy of diagnostic agglutinating serum for the identification of the causative agent of listeriosis. Izvestiya Irkutskogo gosudarstvennogo universiteta (Proceedings of Irkutsk State University). Series «Biology Ecology». 2021; 37:43—53

38. *Yartsev S. N., Melnik R. N., Melnik N. V., Makletsova E. A., Kolpikova O. A., Zakharova E. M., Susskiy E. V., Kolesnichenko I. S.* Optimization of the production of hyperimmune serum against animal necrobacillosis and its efficacy. Veterinariya (Veterinary medicine). 2022; 2:30—34.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

R. A. Svintsov — Candidate of Veterinary Science, Scientific Associate;
I. V. Shamin — Junior Scientific Associate;
E. G. Abramova — Doctor of Biological Sciences, Chief Scientific Associate;
A. V. Razzhivin — Junior Scientific Associate;
M. V. Ovchinnikova — Candidate of Biological Sciences, Head of the Department;
A. K. Nikiforov — Doctor of Biological Sciences, Deputy Director for Experimental and Production Work.

The article was submitted 01.08.2022.

Научная статья
УДК 619:615.4 / 619:615.9
DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.3.48

ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРЕПАРАТА ДЛЯ ФАРМАКОКОРРЕКЦИИ ТЕПЛОВОГО СТРЕССА У ЖИВОТНЫХ

Елена Васильевна Кузьминова✉, Марина Петровна Семененко, Абдулмуталип Магаметович Сампиев, Ксения Андреевна Семененко, Андрей Андреевич Абрамов, Екатерина Николаевна Рудь

Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии, Краснодар, Россия, e-mail: niva1430@mail.ru✉

Аннотация. В статье приведены результаты по оценке безопасности препарата для фармакокоррекции теплового стресса у животных. Флавобетин содержит, в масс%: бетаина гидрохлорид — 50; таурин — 30; траву репешка обыкновенного — 20. Острая токсичность флавобетина изучалась на крысах, которым препарат в дозе 7000 мг/кг массы тела в виде водной суспензии вводился однократно в желудок. Хроническая токсичность флавобетина оценивалась на крысах при пероральном применении в двух дозировках — 350 и 700 мг/кг массы тела в течение трех месяцев. Выполненными исследованиями установлено, что по ГОСТ 12.1.007—76 «Вредные вещества» флавобетин относится к 4 классу опасности (вещества малоопасные). Длительное применение флавобетина нелинейным крысам не выявило его токсического действия на организм лабораторных животных, при этом препарат оказал положительное влияние на ряд показателей крови, стимулируя эритропоэз и белковый обмен, проявляя ростостимулирующее действие. Таким образом, флавобетин как при кратковременном, так и при длительном применении безвреден для животных.
Ключевые слова: тепловой стресс, животные, фармакокоррекция, препарат, флавобетин, безопасность, токсикологические исследования

В современном молочном скотоводстве доля высокопродуктивных пород увеличивается с каждым годом. Животноводство интенсивно развивается за счет достижений селекции, применения новых технологий содержания и кормления животных. Однако опыт выращивания селекционированных по признакам скороспелости и высокой продуктивности пород показал, что такие животные характеризуются сниженной устойчивостью к стрессам. С учетом этого, механизмы стресса и адаптации привлекают внимание исследователей во всем мире, так как уровень адаптационных резервов в организме и их мобильность, как основа приспособления к действию чрезвычайных факторов, определяет состояние здоровья животных и их продуктивные качества [3, 6, 9, 11].

Температура окружающей среды является одной из наиболее значимых причин дистресса у животных, обуславливая значительные экономические потери в отрасли. Изменение климата на планете привело к увеличению распространенности и интенсивности теплового стресса у животных в большинстве регионов во всем мире. Особенно это относится к климатическим зонам с длительным периодом высокой температуры окружающей среды, где тепловой стресс является неизбежным фактором, вызывающим у животных нарушение метаболизма, десинхронизацию физиологических процессов и истощение резервов организма, негативно влияющим на резистентность, снижающим репродуктивные функции, сохранность и продуктивность поголовья [2, 5, 9, 12].

С учетом этого, разработка эффективных препаратов, повышающих адаптационный потенциал животных к воздействию теплового стресс-фактора, является актуальным направлением ветеринарной фармакологии.

Оценка токсических свойств лекарственных средств необходима для обоснования доз, используемых в дальнейшем для оценки специфических видов токсичности и целесообразности последующего исследования препарата [1, 10].

© Кузьминова Е. В., Семененко М. П., Сампиев А. М., Семененко К. А., Абрамов А. А., Рудь Е. Н., 2022

Целью исследований явилась оценка безопасности препарата для фармакокоррекции теплового стресса у животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии» разработан препарат флавобетин, предназначенный для фармакокоррекции теплового стресса у животных, включающий следующие компоненты в масс%: бетаина гидрохлорид — 50; таурин — 30; траву репешка обыкновенного — 20. Осуществлен этап фармацевтической разработки гранулированной лекарственной формы флавобетина, для чего в качестве консерванта использовали натрия бензоат (ФС 42-2458-94), а в качестве связывающего компонента — крахмал картофельный (ГОСТ 7699—78).

Острую и хроническую токсичность гранулированной формы флавобетина проводили с использованием методов, представленных в Методических рекомендациях по токсико-экологической оценке лекарственных средств, применяемых в ветеринарии (1998) и Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, изданном под общей редакцией Р. У. Хабриева (2005). Все эксперименты проведены с соблюдением правил, предусмотренных Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, которые используются с экспериментальной и научной целью (ETS № 123, Страсбург. 18.03.1986).

Для проведения острого токсикологического опыта из нелинейных крыс было сформировано две группы — опытная и контрольная по 10 особей в каждой. Масса животных на начало исследований составила в опытной группе 211,5 ± 1,56 г., в контрольной — 214,8 ± 2,44 г.

Изучаемая дозировка флавобетина составила 7000 мг/кг массы тела (расчет производился индивидуально для каждого животного). Из навесок измельченных гранул флавобетина готовилась водная суспензия, которая вводилась однократно в желудок крысам при помощи атравматичного зонда в дозировке 5 мл на животное. Крысам контрольной группы внутрижелудочно вводилась дистиллированная вода в том же объеме — 5 мл на животное.

Наблюдение за грызунами проводилось непрерывно на протяжении первого дня острого токсикологического эксперимента, а в дальнейшем состояние животных регистрировалось дважды в сутки в течение двух недель. Взвешивание проводилось 3 раза — в начале, середине и в конце опыта.

Хроническая токсичность флавобетина оценивалась на 30 нелинейных крысах, разделенных на три группы — две опытные и одну контрольную (по 10 особей в каждой). В течение трех месяцев животные опытных групп индивидуально натощак один раз в сутки получали измельченные гранулы флавобетина (в форме болюсов): первая опытная группа (1/10 от максимально введенной дозы в остром эксперименте) — 700 мг/кг массы тела; вторая опытная группа (1/20 от максимально введенной дозы в остром эксперименте) — 350 мг/кг массы тела; третья контрольная группа — болюсы без действующего вещества в эквиобъеме и в том же режиме дозирования. За крысами на протяжении опыта осуществлялось клиническое наблюдение, при котором обращалось внимание на летальность, поведенческие реакции, аппетит и другие физиологические факторы. У пяти животных из каждой группы на 45 и 90 сутки опыта исследовалась кровь на основные гематологические и биохимические показатели. Взвешивание крыс осуществлялось в начале опыта и затем каждые 15 дней. Эксперимент завершался эвтаназией пяти крыс из каждой группы с дальнейшим патолого-анатомическим вскрытием и гистологическим исследованием органов [4, 8].

Лабораторные исследования крови проводились при помощи автоматизированных анализаторов — биохимического Vitalab Flexor и гематологического Mythic 18 vet.

Полученные цифровые данные обработаны методами вариационной статистики с определением достоверности значений по t-критерию Стьюдента и уровня достоверности различий показателей по группам.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При оценке острой токсичности гранулированной формы флавобетина зарегистрировано, что у всех крыс (как опытной, так и контрольной групп) сразу после введения образцов и в последующие три часа регистрировалось снижение двигательной активности и повышенный диурез. В дальнейшем все параметры состояния животных нормализовались, летальность отсутствовала. При гравиметрических исследованиях на 14 день эксперимента установлено увеличение массы тела животных опытной группы на 11,5 %, контрольной — на 9,7 %. Межгрупповые различия составили 1,8 %.

Таким образом, для гранулированной формы флавобетина среднесмертельную дозу LD_{50} определить не удалось в связи с отсутствием летальных

исходов по группе опытных крыс. Учитывая, что пероральное введение препарата в дозе 7000 мг/кг массы тела лабораторным крысам переносится без токсических последствий, по ГОСТ 12.1.007—76 «Вредные вещества» флавобетин был отнесен к 4 классу опасности (вещества малоопасные).

В результате проведенного хронического токсикологического эксперимента установлено, что длительное применение флавобетина в изучаемых дозах не приводит к гибели лабораторных животных, а также не вызывает изменений в функционально-поведенческих реакциях крыс. У опытных животных не выявлено изменений и достоверных различий с контрольной группой в показателях ритма дыхания, частоты сердечных сокращений и температуры тела, которые не выходили за границы нормы для взрослых крыс. Отклонений в состоянии слизистых, кожи, шерстного покрова, функциях пищеварения и мочеотделения зарегистрировано не было [7, 8].

Гравиметрическими исследованиями установлено, что к завершению эксперимента масса тела крыс по опытным группам составила –222,7 ± 2,58 г (1 группа) и 219,6 ± 1,83 г (2 группа), против 203,5 ± 2,64 г в контроле. Таким образом, различия в процентном отношении между опытными и контрольными животными составили по 1 опытной группе 11,2 %, по 2 опытной — 7,9 %.

Возможное токсическое влияние флавобетина на организм крыс в хроническом опыте оценивалось при лабораторных исследованиях крови. В результате установлено, что все определяемые показатели находились в пределах физиологических норм — патологических сдвигов не выявлено. Однако длительное применение крысам флавобетина оказало влияние на протеиновый обмен (табл.).

Таблица

Влияние флавобетина на показатели белкового обмена в сыворотке крови лабораторных крыс в хроническом опыте (M ± m; n = 5)

Показатели	Группы		
	1 опытная	2 опытная	3 контрольная
45 день исследований			
Общий белок, г/л	71,4 ± 1,08*	69,5 ± 1,14	66,5 ± 1,23
Мочевина, ммоль/л	8,23 ± 0,57	7,95 ± 0,64	7,48 ± 0,36
Креатинин, ммоль/л	40,4 ± 2,25	39,5 ± 1,39	38,9 ± 1,44
90 день исследований			
Общий белок, г/л	74,8 ± 0,75**	73,5 ± 1,20*	65,3 ± 0,77
Мочевина, ммоль/л	7,94 ± 0,19	7,61 ± 0,25	7,52 ± 0,14
Креатинин, ммоль/л	44,3 ± 2,68	42,9 ± 2,17	39,1 ± 1,35

* $p \leq 0{,}05$
** $p \leq 0{,}01$ — степень достоверности по отношению к контролю

В опытных группах на 45 сутки опыта разница с контролем в концентрации общего белка составила в 1 группе 7,4 % ($p \leq 0{,}05$), во 2 группе — 4,5 %; на 90 сутки опыта в 1 группе — 14,5 % ($p \leq 0{,}01$), во 2 группе — 12,6 % ($p \leq 0{,}05$).

У крыс, получавших флавобетин, к концу опыта зарегистрировано повышение (на уровне тенденции) концентрации креатинина с разницей относительно контрольных аналогов на 13,3 и 9,7 % соответственно по группам [8].

Изменения в остальных биохимических показателях (глюкоза, триглицериды, холестерин, билирубин, аспартат- и аланинаминотрансфераза, кальций общий и фосфор неорганический) носили случайный характер, были недостоверны и не выходили за пределы видовой нормы.

При анализе периферической крови у животных, получавших флавобетин, выявлено повышение концентрации эритроцитов в 1 группе — на 8,6 %, во 2 группе — на 4,3 % (при разнице на уров-

не тенденции с контрольными аналогами к 90 дню исследований). Остальные показатели значимо не отличались от контроля.

В конце опыта по изучению хронической токсичности флавобетина по пять крыс из каждой группы было подвергнуто полной некропсии. При макроскопическом исследовании крыс изменений анатомического строения и топографии внутренних органов установлено не было: шерсть была блестящей, без очагов облысения; кожа обычной окраски без признаков раздражения; слизистая оболочка глаз, носовых ходов и ротовой полости бледно-розового цвета, без наложений, прозрачная и влажная. В массе внутренних органов крыс различий между опытными и контрольной группами не наблюдалось. При гистологическом исследовании внутренних органов животных из опытных и контрольной групп патологических изменений выявлено не было [8].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выполненные экспериментальные исследования свидетельствуют о том, что пероральное введение лабораторным крысам препарата в дозе 7000 мг/кг массы тела переносится ими без токсических последствий и по ГОСТ 12.1.007—76 «Вредные вещества» флавобетин относится к 4 классу опасности (вещества малоопасные).

Длительное применение флавобетина нелинейным крысам в дозах, составляющих 1/10 и 1/20 от максимально введенной дозы в остром опыте (700 и 350 мг/кг массы тела соответственно) не выявило его токсического воздействия на организм лабораторных животных. При этом препарат оказывает положительное влияние на ряд показателей крови, стимулируя эритропоэз и белковый обмен, проявляет ростостимулирующее действие.

Таким образом, флавобетин как при кратковременном, так и при длительном применении безвреден для животных [8].

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Авдеева О. И.* Биоэтические и экономические аспекты в основе выбора метода изучения токсичности лекарственных средств при однократном введении / О. И. Авдеева, М. Н. Макарова, А. В. Калатанова, М. А. Ковалева // Лабораторные животные для научных исследований. — 2018. — № 1. — С. 4—11.

2. *Богданович А. Ю.* Климатические угрозы на Северо-Западе Черноморского побережья Кавказа: современные тренды / А. Ю. Богданович, О. Н. Липка, М. В. Крыленко и др. // Фундаментальная и прикладная климатология. — 2021. — Т. 7. — № 4. — С. 44—70.

3. *Востроилова Г. А.* Характеристика адаптогенных свойств аминоселетона на модели острого иммобилизационного стресса / Г. А. Востроилова, Н. А. Хохлова, Ю. А. Чаплыгина // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2020. — № 1 (10). — С. 16—26.

4. *Ланец О. В.* Определение параметров токсичности нового препарата при длительном воздействии на организм крыс / О. В. Ланец, М. П. Семененко, Е. Н. Рудь // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. — 2020. — Т. 9. — № 1. — С. 362—365.

5. *Легаева Е. А.* Влияние факторов окружающей среды на организм сельскохозяйственных животных / Е. А. Легаева, Н. Л. Лопаева // Молодежь и наука. — 2022. — № 1. — С. 34.

6. *Рудь Е. Н.* Проблема теплового стресса в молочном животноводстве / Е. Н. Рудь, Е. В. Кузьминова, М. П. Семененко, А. А. Абрамов, Н. А. Рудь // Ветеринария Кубани. — 2020. — № 3. — С. 10—11.

7. *Рудь Е. Н.* Доклинические исследования параметров острой токсичности препарата для фармакокоррекции теплового стресса / Е. Н. Рудь, Е. В. Кузьминова, А. А. Абрамов, О. И. Василиади // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. — 2020. — Т. 9. — № 2. — С. 127—131.

8. *Рудь Е. Н.* Разработка, фармако-токсикологические свойства и применение флавобетина при тепловом стрессе у молочного скота: дисс… кандидата биологических наук: 06.02.03 Краснодар 2022.

9. *Шабунин С. В.* Взаимосвязь про- и антиоксидантного статуса и цитокинового профиля у поросят при технологическом стрессе / С. В. Шабунин, А. Г. Шахов, Л. Ю. Сашнина, Г. А. Востроилова и др. // Российская сельскохозяйственная наука. — 2020. — № 5. — С. 63—66.

10. *Шабунин С. В.* Токсикологическая оценка препарата субмастин-крс в остром опыте на лабораторных животных / С. В. Шабунин, Г. А. Востроилова, В. А. Грицюк, Ю. А. Чаплыгина, Н. А. Хохлова // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. — 2021. — № 2 (38). — С. 207—213.

11. *Rud E. N.* Evaluation of the dependence of the air temperature influence on the reproductive function of cows based on ASC-analysis / E. N. Rud, K. A. Semenenko, E. V. Kuzminova, E. V. Lutsenko, M. P. Semenenko // Lecture Notes in Networks and Systems. — 2021. — V. 229. — P. 358—366.

12. *Tao S.* Effects of heat stress during late gestation on the dam and its calf / S. Tao, G. Dahl, J. Laporta, J. Bernard // J. Anim. Sci. — 2018. — Vol. 96. — P. 351—348.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ
Е. В. Кузьминова — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник;
М. П. Семененко — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник;
А. М. Сампиев — доктор фармацевтических наук, ведущий научный сотрудник;
К. А. Семененко — кандидат экономических наук, старший научный сотрудник;
А. А. Абрамов — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник;
Е. Н. Рудь — младший научный сотрудник.

Статья поступила в редакцию 04.08.2022 г.

Original article
UDC 619:615.4 / 619:615.9

SAFETY ASSESSMENT OF THE DRUG FOR PHARMACOCORRECTION OF HEAT STRESS IN ANIMALS

Elena Vasilievna Kuzminova✉, Marina Petrovna Semenenko, Abdulmutalip Magametovich Sampiev, Kseniya Andreevna Semenenko, Andrey Andreevich Abramov, Ekaterina Nikolaevna Rud

Krasnodar Scientific Center for Zootechnics and Veterinary Medicine, Krasnodar, Russia, niva1430@mail.ru✉

Abstract. The article presents the results of safety assessment the of the drug for pharmacocorrection of heat stress in animals. Flavobetin contains, %: betaine hydrochloride — 50; taurine — 30; common agrimony herb — 20. The acute toxicity of flavobetin was studied in rats, in which the drug at a dose of 7000 mg/kg of body weight in the form of an aqueous suspension was administered once into the stomach. The chronic toxicity of flavobetin was assessed in rats at two oral doses of 350 and 700 mg/kg body weight for three months. The performed studies have established that according to GOST 12.1.007—76 «Hazardous Substances» flavobetin belongs to the hazard class 4 (substances of low hazard). Long-term use of flavobetin in non-linear rats did not reveal its toxic effect on the body of laboratory animals, while the drug had a positive effect on a number of blood indicators, stimulating erythropoiesis and protein metabolism, showing a growth-stimulating effect. Thus, flavobetin, both for short-term and long-term use, is harmless to animals.
Keywords: heat stress, animals, pharmacocorrection, drug, flavobetin, safety, toxicological studies

In modern dairy cattle breeding, the share of high yielding breeds is increasing every year. Animal husbandry is intensively developing due to the achievements of breeding, the use of new technologies for keeping and feeding animals. However, the experience of growing breeds selected for early maturation and high productivity has shown that such animals are characterized by reduced resistance to stress. Considering this, the mechanisms of stress and adaptation attract the attention of researchers around the world, since the level of adaptive reserves in the body and their mobility, as the basis for adaptation to the action of emergency factors, determines the state of animal health and their productive qualities [3, 6, 9, 11].

Environmental temperature is one of the most significant causes of distress in animals, causing significant economic losses in the industry. Global climate change has led to an increase in the prevalence and intensity of heat stress in animals in most regions of the world. This is especially true for climatic zones with a long period of high environmental temperature, where heat stress is an inevitable factor that causes metabolic disorders in animals, desynchronization of physiological processes and depletion of body reserves, negatively affecting resistance, reducing reproductive functions, livability and productivity of livestock [2, 5, 9, 12].

Considering this, the design of effective drugs that increase the adaptive potential of animals to the effects of a thermal stress factor is an important area of veterinary pharmacology.

An assessment of the toxic properties of drugs is necessary to justify the doses used in the future to assess specific types of toxicity and the feasibility of a subsequent study of the drug [1, 10].

The objective of the research was to assess the safety of the drug for the pharmacocorrection of heat stress in animals.

MATERIAL AND METHODS

FSBSI «Krasnodar Scientific Center for Zootechnics and Veterinary Medicine» has designed a drug flavobetin intended for the pharmacological correction of heat stress in animals, which includes the following components, %: betaine hydrochloride — 50; taurine — 30; common agrimony herb — 20. The stage of a pharmaceutical design of a granular dosage form of flavobetin has been carried out, for which sodium benzoate (FS42—2458—94) was used as a conservant and potato starch was used as a binding component (GOST 7699—78).

Acute and chronic toxicity of the granular form of flavobetin was carried out using the methods presented in the Methodical Recommendations for the Toxico-

logical and Environmental Assessment of Drugs Used in Veterinary Medicine (1998) and the Guidelines for the Experimental (Preclinical) Study of New Pharmacological Substances published under the general editorship of R. U. Khabriev (2005). All experiments were carried out in compliance with the rules stipulated by the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Scientific Purposes (ETS No. 123, Strasbourg. 18.03.1986).

To conduct an acute toxicological experiment, two groups were formed from non-linear rats (experimental and control), 10 individuals each. The weight of the animals at the beginning of the study was 211.5 ± 1.56 g in the experimental group, and 214.8 ± 2.44 g in the control group.

The studied dosage of flavobetin was 7000 mg/kg of body weight (the calculation was made individually for each animal). An aqueous suspension was prepared from weighed portions of crushed flavobetin granules, which was administered once into the stomach of rats using an atraumatic probe at a dosage of 5 ml per animal. The rats of the control group were intragastrically injected with distilled water in the same volume — 5 ml per animal.

The observation of rodents was carried out continuously during the first day of the acute toxicological experiment, and then the state of the animals was recorded twice a day for two weeks. Weighing was carried out 3 times: at the beginning, in the middle and at the end of the experiment.

The chronic toxicity of flavobetin was assessed on 30 non-linear rats divided into three groups: two experimental and one control (10 individuals in each one). Within three months, the animals of the experimental groups individually on an empty stomach once a day received crushed granules of flavobetin (in the form of boluses): the first experimental group (1/10 of the maximum administered dose in the acute experiment) — 700 mg/kg of body weight; the second experimental group (1/20 of the maximum administered dose in the acute experiment) — 350 mg/kg of body weight; the third control group — boluses without the active substance in the equivalent volume and in the same dosing regimen. The rats were clinically observed throughout the experiment, in which attention was paid to lethality, behavioral responses, appetite and other physiological factors. In five animals from each group on days 45 and 90 of the experiment, the blood was examined for the main hematological and biochemical indicators. Rats were weighed at the beginning of the experiment and then every 15 days. The experiment ended with the euthanasia of five rats from each group with further postmortem autopsy and histological examination of the organs [4, 8].

Laboratory blood tests were carried out using automated analyzers (biochemical Vitalab Flexor and hematological Mythic 18 vet).

The obtained digital data were processed by the methods of variation statistics with the determination of the significance of values according to the Student's t-test and the level of significance of differences in indicators by groups.

STUDY RESULTS

When assessing the acute toxicity of the granular form of flavobetin, it was registered that in all rats (both experimental and control groups) immediately after the introduction of the samples and in the next three hours, a decrease in motor activity and increased diuresis were recorded. Subsequently, all parameters of the animals' state returned to normal, there was no lethality. During gravimetric studies on day 14 of the experiment, an increase in the body weight of animals in the experimental group by 11.5 %, in the control group — by 9.7 % was established. Intergroup differences were 1.8 %.

Thus, it was not possible to determine the average lethal dose LD_{50} for the granular form of flavobetin due to the absence of lethal outcomes in the group of experimental rats. Considering that oral administration of the drug at a dose of 7000 mg/kg of body weight to laboratory rats is tolerated without toxic effects, according to GOST 12.1.007—76 «Hazardous Substances» flavobetin was assigned to the hazard class 4 (substances of low hazard).

As a result of the chronic toxicological experiment, it has been found that long-term use of flavobetin at the studied doses does not lead to the death of laboratory animals and also does not cause changes in the functional and behavioral reactions of rats. Experimental animals showed no changes and significant differences with the control group in terms of respiratory rate, heart rate and body temperature, which did not go beyond the normal range for adult rats. Deviations in the state of mucous membranes, skin, coat, functions of digestion and urination were not registered [7, 8].

Gravimetric studies have established that by the end of the experiment, the body weight of the rats in the experimental groups was 222.7 ± 2.58 g (group 1) and 219.6 ± 1.83 g (group 2) versus 203.5 ± 2.64 g in the control. Thus, the differences in percentage between the experimental and control animals were 11.2 % for the experimental group 1, 7.9 % for the experimental group 2.

The possible toxic effect of flavobetin on the body of rats in a chronic experiment was assessed using laboratory blood tests. As a result, it was found that all the determined indicators were within the physiological norms — no pathological changes were detected. However, long-term use of flavobetin in rats had an effect on protein metabolism (Table).

In the experimental groups on day 45 of the experiment, the difference with the control in the concentration of total protein was 7.4 % in group 1 ($p \leq 0.05$), in group 2—4.5 %; on day 90 of the experiment in group 1—14.5 % ($p \leq 0.01$), in group 2—12.6 % ($p \leq 0.05$). In rats treated with flavobetin, by the end of the experiment, an increase (at the level of a trend) in creatinine concentration was recorded with a difference relative to the control analogs by 13.3 and 9.7 % (in groups), respectively [8].

Changes in other biochemical indicators (glucose, triglycerides, cholesterol, bilirubin, aspartate and alanine aminotransferase, total calcium and inorganic phosphorus) were random, unreliable and did not go beyond the species norm.

Table

Effect of flavobetin on the serum blood indicators of protein metabolism of laboratory rats in a chronic experiment (M ± m; n = 5)

Indicators	Groups		
	experimental 1	experimental 2	control 3
Day 45 of the experiment			
Total protein, g/L	71.4 ± 1.08*	69.5 ± 1.14	66.5 ± 1.23
Urea, mmol/L	8.23 ± 0.57	7.95 ± 0.64	7.48 ± 0.36
Creatinine, mmol/L	40.4 ± 2.25	39.5 ± 1.39	38.9 ± 1.44
Day 90 of the experiment			
Total protein, g/L	74.8 ± 0.75**	73.5 ± 1.20*	65.3 ± 0.77
Urea, mmol/L	7.94 ± 0.19	7.61 ± 0.25	7.52 ± 0.14
Creatinine, mmol/L	44.3 ± 2.68	42.9 ± 2.17	39.1 ± 1.35

* $p \leq 0.05$
** $p \leq 0.01$ — degree of significance in relation to the control

In the analysis of peripheral blood in animals treated with flavobetin, an increase in the concentration of erythrocytes in group 1 — by 8.6 %, in group 2 — by 4.3 % (with a difference at the level of the trend with control analogs by day 90 of the study) was revealed. The rest of the indicators did not differ significantly from the control.

At the end of the experiment on the study of chronic toxicity of flavobetin, five rats from each group were subjected to complete necropsy. In a macroscopic study of rats, no changes in the anatomical structure and topography of the internal organs were found: the coat was shiny, without foci of alopecia; skin of normal color without signs of irritation; the mucous membrane of the eyes, nasal passages and oral cavity is pale pink, without overlays, transparent and moist. In the mass of the internal organs of rats, no differences were observed between the experimental and control groups. Histological examination of the internal organs of the animals from the experimental and control groups revealed no pathological changes [8].

CONCLUSION

The experimental studies performed indicate that oral administration of the drug to laboratory rats at a dose of 7000 mg/kg of body weight is tolerated by them without toxic consequences and according to GOST 12.1.007—76 «Hazardous Substances» flavobetin belongs to the hazard class 4 (substances of low hazard).

Long-term use of flavobetin in non-linear rats at doses of 1/10 and 1/20 of the maximum administered dose in an acute experiment (700 and 350 mg/kg of body weight, respectively) did not reveal its toxic effects on the body of laboratory animals. At the same

time, the drug has a positive effect on a number of blood indicators, stimulating erythropoiesis and protein metabolism, and has a growth-stimulating effect.

Thus, flavobetin is harmless to animals both for short-term and long-term use [8].

REFERENCES

1. *Avdeeva O. I.* Bioethical and economic aspects in the basis of the choice of a method for studying the toxicity of drugs with a single injection / O. I. Avdeeva, M. N. Makarova, A. V. Kalatanova, M. A. Kovaleva // Laboratornye zhivotnye dlya nauchnykh issledovaniy (Laboratory animals for scientific research). — 2018. — No. 1. — P. 4—11.

2. *Bogdanovich A. Yu.* Climate threats in the North-West of the Black Sea coast of the Caucasus: current trends / A. Yu. Bogdanovich, O. N. Lipka, M. V. Krylenko et al. // Fundamentalnaya i prikladnaya klimatologiya (Fundamental and applied climatology). — 2021. — V. 7. — No. 4. — P. 44—70.

3. *Vostroilova G. A.* Characteristic of adaptogenic properties of aminoselton on the model of acute immobilization stress / G. A. Vostroilova, N. A. Khokhlova, Yu.A. Chaplygina // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2020. — No. 1 (10). — P. 16—26.

4. *Lanets O. V.* Determination of the toxicity parameters of a new drug during long-term exposure to the body of rats / O. V. Lanets, M. P. Semenenko, E. N. Rud // Collection of scientific papers of Krasnodar Scientific Center for Zootechnics and Veterinary Medicine. — 2020. — V. 9. — No. 1. — P. 362—365.

5. *Legaeva E. A.* Effect of environmental factors on the organism of farm animals / E. A. Legaeva, N. L. Lopaeva // Molodezh i nauka (Youth and science). — 2022. — No. 1. — P. 34.

6. *Rud E. N.* The problem of heat stress in dairy farming / E. N. Rud, E. V. Kuzminova, M. P. Semenenko, A. A. Abramov, N. A. Rud // Veterinariya Kubani (Veterinary Medicine of the Kuban). — 2020. — No. 3. — P. 10—11.

7. *Rud E. N.* Preclinical studies of acute toxicity parameters of the drug for pharmacocorrection of heat stress / E. N. Rud, E. V. Kuzminova, A. A. Abramov, O. I. Vasiliadi // Collection of scientific works of Krasnodar Scientific Center for Zootechnics and Veterinary Medicine. — 2020. — V. 9. — No. 2. — P. 127—131.

8. *Rud E. N.* Design, pharmacotoxicological properties and use of flavobetin in case of heat stress in dairy cattle: Thesis … Candidate of Veterinary Sciences: 06.02.03 Krasnodar 2022.

9. *Shabunin S. V.* Relationship between pro- and antioxidant status and cytokine profile in piglets under technological stress / S. V. Shabunin, A. G. Shakhov, L. Yu. Sashnina, G. A. Vostroilova et al. // Rossiyskaya selskokhozyaystvennaya nauka (Russian Agricultural Science). — 2020. — No. 5. — P. 63—66.

10. *Shabunin S. V.* Toxicological assessment of the drug Submastin-KRS in an acute experiment on laboratory animals / S. V. Shabunin, G. A. Vostroilova, V. A. Gritsyuk, Yu.A. Chaplygina, N. A. Khokhlova // Rossiyskiy zhurnal Problemy veterinarnoy sanitarii, gigieny i ekologii (Russian Journal of Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology). — 2021. — No. 2 (38). — P. 207—213.

11. *Rud E. N.* Evaluation of the dependence of the air temperature influence on the reproductive function of cows based on ASC-analysis / E. N. Rud, K. A. Semenenko, E. V. Kuzminova, E. V. Lutsenko, M. P. Semenenko // Lecture Notes in Networks and Systems. — 2021. — V. 229. — P. 358—366.

12. *Tao S.* Effects of heat stress during late gestation on the dam and its calf / S. Tao, G. Dahl, J. Laporta, J. Bernard // J. Anim. Sci. — 2018. — Vol. 96. — P. 351—348.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

E. V. Kuzminova — Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate;
M. P. Semenenko — Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate;
A. M. Sampiev — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Principal Scientific Associate;
K. A. Semenenko — Candidate of Economic Sciences, Senior Scientific Associate;
A. A. Abramov — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Scientific Associate;
E. N. Rud — Junior Scientific Associate.

The article was submitted 04.08.2022.

Научная статья
УДК 619:[618.14—002:578.245]:636.2
DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.3.57

ТЕРАПИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА У КОРОВ С ПРИМЕНЕНИЕМ РЕКОМБИНАНТНЫХ ИНТЕРФЕРОНОВ

Виталий Иванович Михалев✉, Владимир Николаевич Скориков, Лариса Юрьевна Сашнина, Валентина Ивановна Моргунова

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

Аннотация. В статье представлены результаты эффективности применения биферона-б и интерферона-лямбда при терапии коров с хроническим эндометритом. Совместное применение биферона-б дважды с 24-часовым интервалом по 10 мл и интерферона-лямбда дважды по 10 мл внутримышечно на фоне симптоматической и этиотропной терапии способствует клиническому выздоровлению 91,6 %, оплодотворению 83,3 % животных, при сокращении продолжительности периода от окончания лечения до оплодотворения на 16,8 дней и коэффициента оплодотворения — на 0,82. Клиническое выздоровление животных после применения рекомбинантных интерферонов происходит на фоне снижения воспалительной реакции в половых органах, эндогенной интоксикации, процессов перекисного окисления липидов при одновременной активизации клеточного звена неспецифической резистентности и антиоксидантой защиты.
Ключевые слова: коровы, биферон-б, интерферон-лямбда, хронический эндометрит, терапия

Среди причин, сдерживающих максимальное получение животноводческой продукции, ведущее место принадлежит патологии органов воспроизводства. Доминирующе место среди гинекологических заболеваний занимают хронические воспалительные заболевания матки, в том числе эндометриты. Степень распространения хронических эндометритов у коров составляет 15,5—52,7 % от общего числа бесплодных животных [1—3].

Основу терапевтических мероприятий при хроническом эндометрите у коров составляют антимикробные средства различного механизма действия. Применение данных препаратов в последнее время носит все более масштабный характер, что в конечном итоге снижает эффективность проводимых терапевтических мероприятий из-за развития антибиотикорезистентных штаммов и снижает качество получаемой животноводческой продукции [4, 5].

Поэтому для получения высокого терапевтического эффекта при лечении хронического эндометрита у коров целесообразно использовать комплексные схемы лечения, предусматривающие применение средств общестимулирующей патогенетической терапии, маточных миотропных и противомикробных лекарственных препаратов [6, 7].

Из средств общестимулирующего действия, способствующих повышению иммунологической реактивности организма, нормализации обмена веществ, в акушерско-гинекологической практике используют тканевые препараты, ихтиол, цитрированную кровь, витаминные препараты [8, 9]. К одним из средств общестимулирующего действия можно отнести препараты, содержащие интерфероны.

Интерфероны способны индуцировать антивирусную активность в инфицированных клетках, иммуномодулирующие свойства при инфекциях различной этиологии. Благодаря использованию методов генной инженерии и современной биотехнологии многие интерфероны в настоящее время производятся в виде рекомбинантных препаратов, идентичных эндогенным молекулам [10—12].

В последнее время все большее применение в ветеринарной практике находит препарат биферон-б, содержащий в своем составе интерферон-альфа и интерферон-гамма с активностью не менее $1{,}0 \cdot 10^4$ МЕ/см^3 [13].

© Михалев В. И., Скориков В. Н., Сашнина Л. Ю., Моргунова В. И., 2022

Интерферон-альфа проявляет антивирусный и антипролиферативный эффект, интерферон-гамма — индуцирует активность клеточных ферментов, что приводит к нарушению метаболизма и гибели пораженной клетки [14—16]. Использование рекомбинантных альфа-, гамма-интерферонов способствует стимуляции обменных процессов, неспецифической резистентности, регенерации тканей. Вводимые в организм интерфероны восполняют дефицит эндогенных аналогов и полностью воспроизводят их эффекты [17—20].

В акушерско-гинекологической практике заслуживает внимание также применение препаратов, содержащих интерфероны III типа, так как они функционируют на эпителиальных поверхностях дыхательных путей, пищеварительного тракта, органов воспроизводства, выполняя защитные функции [21, 22].

Поэтому изучение возможности применения препаратов интерферонового ряда с целью повышения эффективности лечения коров при хроническом эндометрите является одной из актуальных задач акушерской науки.

Цель исследований — изучить эффективность применения рекомбинантных интерферонов для терапии коров с хроническим эндометритом.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследований служили коровы с хроническим эндометритом. Диагноз на хронический эндометрит ставили в соответствии с «Методическим пособием по профилактике бесплодия у высокопродуктивного молочного скота» (Воронеж, 2010). Исследования проведены на 36 животных, разделенных по принципу аналогов на три группы. Коровам первой группы (n = 12) внутриматочно вводили антимикробный препарат широкого спектра действия (метрикур) согласно наставлению по его применению, а также утеротон внутримышечно в дозе 10,0 мл трехкратно с 24-часовым интервалом, второй (n = 12) — биферон-Б дважды с 24-часовым интервалом по 10 мл, метрикур и утеротон, третьей (n = 12) — биферон-Б дважды с 24-часовым интервалом по 10 мл и интерферон-лямбда дважды по 10 мл, а также метрикур и утеротон. Терапевтическую эффективность определяли по количеству выздоровевших и оплодотворившихся коров, продолжительности периода бесплодия, коэффициенту оплодотворения. От пяти коров из каждой группы перед началом лечения и по окончании терапевтического курса отобраны пробы крови для проведения лабораторных исследований. Содержание фактора некроза опухоли-альфа, интерлейкина — 2, 4, 10 определено методом ИФА с использованием специфических тест-систем Bovine Elisa Kit Clood-Clone Corp (USA). Цифровой материал подвергали математической обработке с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Установлено (табл. 1), что после применения метрикура выздоровело 66,7 % животных, оплодотворилось — 58,3 % в среднем через 40,5 ± 3,2 дней после проведенного терапевтического курса при коэффициенте оплодотворения, равном 2,24 ± 0,13.

Таблица 1

Эффективность применения Биферона-Б и интерферона-лямбда для терапии хронического эндометрита у коров

Группа животных	Кол-во животных	Выздоровело, коров/%	Оплодотворилось, коров/%	Период от окончания лечения до оплодотворения, дней	Коэффициент оплодотворения
Метрикур	12	8/66,7	7/58,3	40,5 ± 3,2	2,24 ± 0,13
Метрикур + биферон-Б	12	10/83,3	9/75,0	32,3 ± 2,1	1,78 ± 0,11*
Интерферон-лямбда + биферон-Б	12	11/91,6	10/83,3	23,7 ± 1,4*	1,42 ± 0,08**

* $P < 0,05$

** $P < 0,01$ — по сравнению с метрикуром

Совместное применение метрикура и биферона-б сопровождается повышением терапевтической эффективности на 16,6 % по сравнению с использованием одного метрикура, при сокращении периода от окончания лечения до оплодотворения на 8,2 дня и коэффициента оплодотворения — на 0,46 ($P < 0,05$).

Наилучшие результаты получены при лечении коров с хроническим эндометритом, предусматривающие применение биферона-б и интерферона-лямбда. Эффективность комплексного лечения с бифероном-б и интерфероном-лямбда составила 91,6 %, что на 24,9 % выше по сравнению с метрикуром. Оплодотворение после проведенного терапевтического курса наступило у 83,3 % животных, что на 25,0 % выше в сравнении с метрикуром, при сокращении продолжительности от окончания лечения до оплодотворения на 16,8 дней ($P < 0,05$) и коэффициента оплодотворения — на 0,82 ($P < 0,01$).

Высокая клиническая эффективность терапии коров с хроническим эндометритом подтверждена результатами лабораторных исследований крови коров до и после проведенного лечения (табл. 2).

Таблица 2

Показатели морфо-биохимического статуса крови коров при терапии хронического эндометрита

Показатели	До лечения	По окончании терапевтического курса		
		метрикур	метрикур + биферон-б	интерферон-лямбда + биферон-б
1	2	3	4	5
Лейкоциты, 10^9/л	10,6 ± 0,7	8,5 ± 0,25	7,9 ± 0,44	6,3 ± 0,49*
Эозинофилы, %	8,2 ± 0,39	7,1 ± 0,44	4,4 ± 0,22*	3,1 ± 0,15**
Нейтрофилы, %:				
палочкоядерные	13,1 ± 0,41	11,1 ± 0,7	7,3 ± 0,52**	5,0 ± 0,51***
сегментоядерные	34,6 ± 3,1	37,3 ± 1,9	39,1 ± 3,6	40,2 ± 3,4
Моноциты, %	7,2 ± 0,44	5,9 ± 0,22	4,4 ± 0,19*	3,8 ± 0,21***
Лимфоциты, %	36,9 ± 2,9	38,6 ± 2,4	44,8 ± 2,9	47,9 ± 2,5
Общий белок, г/л	74,7 ± 5,2	75,3 ± 6,7	76,8 ± 4,4	79,3 ± 5,2
Альбумины, %	42,7 ± 3,8	43,5 ± 3,5	45,9 ± 3,4	46,7 ± 3,1
α-глобулины, %	15,3 ± 1,2	14,8 ± 1,1	11,4 ± 0,7	10,6 ± 0,5*
β-глобулины, %	23,4 ± 1,9	22,4 ± 1,6	20,8 ± 1,6	19,5 ± 1,4
γ-глобулины, %	18,6 ± 1,3	19,3 ± 1,5	21,9 ± 1,7	23,2 ± 1,3
Общие Jg, г/л	23,9 ± 1,8	22,1 ± 1,8	19,5 ± 1,3	17,8 ± 1,1
ЦИК, г/л	0,41 ± 0,02	0,38 ± 0,02	0,29 ± 0,01**	0,25 ± 0,01***
БАСК, %	71,3 ± 4,9	72,2 ± 4,5	74,9 ± 4,6	80,6 ± 5,3
ЛАСК, мкг/мл	1,7 ± 0,12	1,8 ± 0,10	2,1 ± 0,12	2,5 ± 0,19*
ФАЛ, %	66,1 ± 5,5	64,8 ± 4,8	70,6 ± 3,9	77,9 ± 4,1
ФИ	4,4 ± 0,23	4,6 ± 0,29	6,8 ± 0,41*	7,4 ± 0,37**
ФЧ	2,9 ± 0,13	3,0 ± 0,17	4,8 ± 0,29*	5,8 ± 0,33***

Окончание табл. 2

1	2	3	4	5
Витамин А, мкМ/л	1,2 ± 0,09	1,3 ± 0,11	1,5 ± 0,08	1,8 ± 0,11*
Витамин Е, мкМ/л	15,3 ± 1,1	16,6 ± 0,9	19,4 ± 1,5	20,9 ± 1,3*
Витамин С, мкМ/л	20,1 ± 1,7	21,1 ± 1,5	23,4 ± 1,6	26,3 ± 2,1
ИЭИ	45,3 ± 2,1	40,1 ± 2,5	36,5 ± 1,9	30,9 ± 1,9*
Каталаза, мкМ H_2O_2/л·мин·10^3	31,4 ± 2,8	32,2 ± 2,9	37,9 ± 2,3	43,7 ± 2,5*
ГПО, мкМ GSH/л·мин·10^3	12,9 ± 1,1	13,8 ± 0,9	15,8 ± 1,1	18,1 ± 1,1*
МДА, мкМ/л	3,19 ± 0,25	3,02 ± 0,18	2,87 ± 0,15	2,43 ± 0,14*
МСМ, у.е	1,88 ± 0,11	1,85 ± 0,12	1,42 ± 0,13*	1,35 ± 0,11*
NO_x, мкМ/л	65,3 ± 5,9	62,9 ± 3,1	45,9 ± 4,3*	38,9 ± 2,5**
$ФНО_\alpha$, пг/мл	297,6 ± 22,1	264,3 ± 19,8	221,6 ± 15,1	189,6 ± 13,7*
ИЛ-2, пг/мл	97,6 ± 8,8	90,3 ± 5,5	70,9 ± 4,4*	64,8 ± 4,9*
ИЛ-4, пг/мл	40,3 ± 2,4	44,9 ± 3,1	62,8 ± 3,3*	66,9 ± 4,2**
ИЛ-10, пг/мл	58,6 ± 5,1	60,4 ± 3,9	79,6 ± 5,5*	85,7 ± 5,7**

* $P < 0,05$
** $P < 0,01$
*** $P < 0,001$ — по сравнению с метрикуром

Установлено, что клиническое выздоровление коров при лечении хронического эндометрита с применением метрикура и биферона-б сопровождается снижением содержания лейкоцитов на 7,1 % по сравнению с применением одного метрикура, эозинофилов — на 38,0 % ($P < 0,05$), палочкоядерных нейтрофилов — на 34,2 % ($P < 0,01$), моноцитов — на 25,4 % ($P < 0,05$), циркулирующих иммунных комплексов — на 23,7 % ($P < 0,01$), молекул средней массы — на 23,2 % ($P < 0,05$), оксида азота — на 27,0 % ($P < 0,05$), ИЛ-2 — на 21,5 % ($P < 0,05$), при повышении фагоцитарного индекса на 47,8 % ($P < 0,05$), фагоцитарного числа — на 60,0 % ($P < 0,05$), ИЛ-4 — на 39,9 % ($P < 0,05$) и ИЛ-10 — на 31,8 % ($P < 0,05$).

При совместном применении интерферона-лямбда и биферона-б в процессе клинического выздоровления установлено снижение содержания лейкоцитов на 25,9 % ($P < 0,05$) по сравнению с применением метрикура, эозинофилов — на 56,3 % ($P < 0,01$), палочкоядерных нейтрофилов — на 54,9 % ($P < 0,001$), моноцитов — на 35,6 % ($P < 0,001$), альфа-глобулинов — на 28,4 % ($P < 0,05$), циркулирующих иммунных комплексов — на 34,2 % ($P < 0,001$), малонового диальдегида — на 19,5 % ($P < 0,05$), молекул средней массы — на 27,0 % ($P < 0,05$), оксида азота — на 38,2 % ($P < 0,01$), индекса эндогенной интоксикации — на 22,9 % ($P < 0,05$), $ФНО_\alpha$ — на 28,3 % ($P < 0,05$), ИЛ-2 — на 28,2 % ($P < 0,05$), при повышении уровня лимфоцитов на 24,1 %, лизоцимной активности сыворотки крови — на 38,9 % ($P < 0,05$), фагоцитарного индекса — на 60,9 % ($P < 0,01$), фагоцитарного числа — на 93,3 % ($P < 0,001$), витамина А — на 38,5 % ($P < 0,05$), витамина Е — на 25,9 % ($P < 0,05$), активности каталазы — на 35,7 % ($P < 0,05$), глутатионпероксидазы — на 31,2 % ($P < 0,05$), ИЛ-4 — на 49,0 % ($P < 0,01$) и ИЛ-10 — на 41,9 % ($P < 0,01$). Результаты морфо-биохимических исследований крови коров после проведенного лечения с применением интерферона-лямбда и биферона-б свидетельствуют о снижении воспа-

лительной реакции в половых органах, эндогенной интоксикации, процессов перекисного окисления липидов на фоне активизации клеточного звена неспецифической резистентности и антиоксидантой защиты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Терапия коров с хроническим эндометритом, предусматривающая применение интерферона-лямбда и биферона-б в сочетании с симптоматическими и этитропными препаратами, сопровождается клиническим выздоровлением 91,6 % животных, последующим оплодотворением 83,3 %, при сокращении продолжительности бесплодия на 16,8 дней и коэффициента оплодотворения — на 0,82. Клиническое выздоровление животных после применения рекомбинантных интерферонов происходит на фоне снижения воспалительной реакции в половых органах, эндогенной интоксикации, процессов перекисного окисления липидов при одновременной активизации клеточного звена неспецифической резистентности и антиоксидантой защиты.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Гавриш В. Г.* Распространение субклинического эндометрита у коров в Поволжье и экономический ущерб / В. Г. Гавриш // Состояние и перспективы науч. исслед. По профилактике и лечению болезней с.-х. животных и птиц: Матер. науч. конф., посвящ 50 — летию Краснодар. НИВС. — Краснодар, 1996. — Ч. 2. — С. 9—10.

2. *Дубовикова М. С.* Распространение острых и хронических эндометритов у коров в сельскохозяйственных организациях Краснодарского края / И. С. Коба, М. Б. Решетка, М. С. Дубовикова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. — 2016. — № 2 (136). — С. 103—106.

3. *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.

4. *Ефимочкина Н. Р.* Антибиотикорезистентность штаммов Campylobacter jejuni, выделенных из пищевых продуктов / Н. Р. Ефимочкина, Ю. В. Короткевич, В. В. Стеценко и др. // Вопросы питания. — 2017. — Т. 86. — № 1. — С. 17—27.

5. *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.

6. *Мисайлов В. Д.* Меры борьбы с бесплодием и яловостью коров / В. Д. Мисайлов. — Улан-Уде, 1976. — 77 с.

7. *Турченко А. Н.* Распространение и лечение эндометритов у коров / А. Н. Турченко, А. А. Лимаренко // Тезисы докл. науч. конф. ВНИИНБЖ. — Воронеж, 1994. — С. 139.

8. *Турченко А. Н.* Этиология и лечение послеродового эндометрита коров / А. Н. Турченко // Ветеринария. — 2001. — № 7. — С. 35—37.

9. *Ершов Ф. И.* Система интерферона в норме и при патологии / Ф. И. Ершов // Природа интерферонов. М.: Медицина, 1996. — С. 34—38.

10. *Boxx G. M.*, *Cheng G.* Cell Host & Microbe. 2016. — № 19 (6). — P. 760—769.

11. *Eschleman E. M.*, *Lenz L. L.* Front Immunol. — 2014. — № 5. — P. 431.

12. *Прокулевич В. А.* Ветеринарные препараты на основе интерферона / В. А. Прокулевич, М. И. Потапович // Вестник БГУ. — Серия 2. — 2011. — № 3. — С. 51—54.

13. *Козлова О. А.* Применение препарата «Биферона-Б» коровам в период запуска и перед отелом / О. А. Козлова // Международный академический вестник. — 2019. — 7 (39). — С. 9—13.

14. *Ершов Ф. И.* Теоретические и прикладные аспекты системы интерферонов: к 60-летию открытия интерферонов / Ф. И. Ершов, А. Н. Наровлянский // Вопросы вирусологии. — 2018. — № 63 (1). — С. 10—18. DOI: 10.18821/0507-4088-2018-63-1-10-18.

15. *Козлова О. А.* Эффективность применения Биферона Б коровам в период запуска и перед отелом / О. А. Козлова, Г. Ф. Медведев, М. И. Потапович, В. А. Прокулевич // В сб.: Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. — Горки, 2018. — вып. 21. — ч. 2. — С. 3—10.

16. *Моисеев А. Н.* Биологическая роль интерферона-гамма в регуляции иммунитета животных / А. Н. Моисеев, П. А. Барышников // Ветеринария. — 2016. — № 3. — С. 50—54.

17. *Реутова Е. А.* Морфологическое состояние тонкого кишечника поросят при введении иммунокорректора «Вестин» в системе «мать-плод» / Е. А. Реутова, Л. И. Дроздова // Вестник КрасГАУ. — 2018. — № 1 (136). — С. 50—55.

18. *Шапошников И. Т.* Влияние биферона-б и плаценты денатурированной эмульгированной на белковый обмен у коров с иммунодефицитным состоянием / И. Т. Шапошников, Г. Г. Чусова, В. Н. Коцарев // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2021. — № 2 (15). — С. 107—116. DOI: 10.17238/issn2541—8203.2021.2.107.

19. *Шахов А. Г.* Влияние биферона-С на белковый обмен, неспецифическую резистентность и продуктивность поросят, отставших в росте и развитии / А. Г. Шахов, Л. Ю. Сашнина, К. В. Тараканова и др. // Ветеринарный

фармакологический вестник. — 2021. — № 2 (15). — С. 125—136. DOI: 10.17238/issn2541—8203.2021.2.125.

20. *Шапошников И. Т.* Влияние препаратов плаценты денатурированной эмульгированной и биферона-б на морфологический состав крови коров с иммунодефицитным состоянием, находящихся в условиях экологического неблагополучия / И. Т. Шапошников, Г. Г. Чусова, В. Н. Коцарев // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2021. — № 1 (14). — С. 16—26. DOI: 10.17238/issn2541—8203.2021.1.16.

21. *Hemann E. A.* Interferon Lambda Genetics and Biology in Regulation of Viral Control / E. A. Hemann, M. Jr. Gale, R. Savan // Front. Immunol. — 2017. — № 8. — P. 1707. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01707.

22. *Lozhkov A. A.* The key roles of interferon lambda in human molecular defense against respiratory viral infection / A. A. Lozhkov, S. A. Klotchenko, E. S. Ramsay et al. // Pathogens. — 2020. — № 9 (12). — P. 989. DOI: 10.3310/pathogens9120989.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

В. И. Михалев — доктор ветеринарных наук, заведующий сектором;
В. Н. Скориков — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник;
Л. Ю. Сашнина — доктор ветеринарных наук, заведующая лабораторией;
В. И. Моргунова — кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник.

Статья поступила в редакцию 13.07.2022 г.

Original article
UDC 619:[618.14—002:578.245]:636.2

THERAPY OF CHRONIC ENDOMETRITIS IN COWS USING RECOMBINANT INTERFERONS

Vitaliy Ivanovich Mikhalev✉, Vladimir Nikolaevich Skorikov, Larisa Yuryevna Sashnina, Valentina Ivanovna Morgunova

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

Abstract. The article presents the results of the efficacy of the use of biferon-b and interferon-lambda in the treatment of cows with chronic endometritis. The combined use of biferon-b twice at a dose of 10 ml with a 24-hour interval and interferon-lambda twice at a dose of10 ml intramuscularly against the background of symptomatic and etiotropic therapy contributes to the clinical recovery of 91.6 %, the fertilization of 83.3 % of animals, while reducing the duration of the period from the end of treatment to fertilization by 16.8 days and the fertilization rate — by 0.82. Clinical recovery of animals after the use of recombinant interferons occurs against the background of a decrease in the inflammatory reaction in the genital organs, endogenous intoxication, lipid peroxidation processes with simultaneous activation of the cellular link of nonspecific resistance and antioxidant protection.

Keywords: cows, biferon-b, interferon-lambda, chronic endometritis, therapy

Among the reasons hindering the maximum receipt of livestock products, the leading place belongs to the pathology of reproductive organs. The dominant place among gynecological diseases is occupied by chronic uterine inflammatory diseases, including endometritis. The prevalence of chronic endometritis in cows is 15.5—52.7 % of the total number of infertile animals [1—3].

The basis of therapeutic measures for chronic endometritis in cows are antimicrobial agents of various mechanisms of action. The use of these drugs has recently become more widespread, which ultimately reduces the efficacy of ongoing therapeutic measures due to the development of antibiotic-resistant strains and reduces the quality of the resulting livestock products [4, 5].

Therefore, to obtain a high therapeutic effect in the treatment of chronic endometritis in cows, it is advisable to use complex treatment regimens that involve the use of general stimulating pathogenetic therapy, uterine myotropic and antimicrobial drugs [6, 7].

Out of the general stimulating agents that increase the body's immunological reactivity and normalize metabolism, tissue drugs, ichthyol, citrated blood and vitamin drugs are used in obstetric and gynecological practice [8, 9]. One of the means of general stimulating action can be attributed to drugs containing interferons.

Interferons are able to induce antiviral activity in infected cells, immunomodulatory properties in case of infections of various etiologies. Thanks to the use of genetic engineering methods and modern biotechnology, many interferons are currently produced as recombinant drugs that are identical to endogenous molecules [10—12].

Recently, the drug biferon-b, which contains interferon-alpha and interferon-gamma with an activity of at least $1.0 \cdot 10^4$ IU/cm^3, has found increasing use in veterinary practice [13]. Interferon-alpha exhibits an antiviral and antiproliferative effect, while interferon-gamma induces the activity of cellular enzymes, which leads to metabolic disorders and death of the affected cell [14—16]. The use of recombinant interferons-alpha, — gamma contributes to the stimulation of metabolic processes, non-specific resistance and tissue regeneration. Interferons introduced into the body compensate for the deficiency of endogenous analogs and fully reproduce their effects [17—20].

In obstetric and gynecological practice, the use of drugs containing type III interferons also deserves attention, since they function on the epithelial surfaces

© Mikhalev V. I., Skorikov V. N., Sashnina L. Yu., Morgunova V. I., 2022

of the respiratory tract, digestive tract and reproductive organs, performing protective functions [21, 22].

Therefore, the study of the possibility of using interferon drugs in order to increase the efficacy of treatment of cows with chronic endometritis is one of the urgent tasks of obstetric science.

The objective of the research is to study the efficacy of the use of recombinant interferons for the treatment of cows with chronic endometritis.

MATERIAL AND METHODS

The object of research was cows with chronic endometritis. The diagnosis of chronic endometritis was made in accordance with the Methodological Guide for the Prevention of Infertility in High-Yielding Dairy Cattle (Voronezh, 2010). The studies were carried out on 36 animals, divided according to the principle of analogues into three groups. The cows of the first group (n = 12) were intrauterinely injected with a broad-spectrum antimicrobial drug (metricure) according to the instructions for its use, as well as uteroton — intramuscularly three times at a dose of 10.0 ml with a 24-hour interval, the cows of the second group (n = 12) — biferon-b twice at a dose of 10 ml with a 24-hour interval, metricure and uteroton, the cows of the third group (n = 12) — biferon-b twice at a dose of 10 ml with a 24-hour interval and interferon-lambda twice at a dose of 10 ml and also metricure and uteroton. Therapeutic efficacy was determined by the number of recovered and fertilized cows, the duration of the infertility period and the fertilization rate. From five cows from each group, before the treatment onset and at the end of the therapeutic course, blood samples were taken for laboratory tests. The content of tumor necrosis factor-alpha, interleukin — 2, 4, 10 was determined by ELISA using specific test systems Bovine Elisa Kit Cloud-Clone Corp (USA). The digital material was subjected to mathematical processing using the Statistica 6.0 software package.

STUDY RESULTS

It was established (Table 1) that after the application of metricure, 66.7 % of animals recovered, 58.3 % were fertilized on average in 40.5 ± 3.2 days after the therapeutic course with a fertilization rate equal to 2.24 ± 0.13.

Table 1

The efficacy of the use of biferon-b and interferon-lambda for the treatment of chronic endometritis in cows

Group of animals	Number of animals	Recovered, cows/%	Fertilized, cows/%	Period from the end of treatment to fertilization, d	Fertilization rate
Metricure	12	8/66.7	7/58.3	40.5 ± 3.2	2.24 ± 0.13
Metricure + biferon-b	12	10/83.3	9/75.0	32.3 ± 2.1	1.78 ± 0.11*
Interferon-lambda + biferon-b	12	11/91.6	10/83.3	23.7 ± 1.4*	1.42 ± 0.08**

* $P < 0.05$
** $P < 0.01$ — compared with metricure

The combined use of metricure and biferon-b is accompanied by an increase in therapeutic efficacy by 16.6 % compared with the use of metricure alone, while reducing the period from the end of treatment to fertilization by 8.2 days and the fertilization rate — by 0.46 ($P < 0.05$).

The best results were obtained in the treatment of cows with chronic endometritis, involving the use of biferon-b and interferon-lambda. The efficacy of complex treatment with biferon-b and interferon-lambda was 91.6 %, which was by 24.9 % higher, compared to metricure. Fertilization after the therapeutic course occurred in 83.3 % of animals, which was by 25.0 % higher, compared to metricure, with a reduction in the duration from the end of treatment to fertilization by 16.8 days ($P < 0.05$) and fertilization rate — by 0.82 ($P < 0.01$).

The high clinical efficacy of therapy for cows with chronic endometritis was confirmed by the results of laboratory blood tests of cows before and after the treatment (Table 2).

It has been established that the clinical recovery of cows in case of chronic endometritis treatment with the use of metricure and biferon-b is accompanied by a de-

crease in the content of leukocytes by 7.1 %, compared with the use of metricure alone, eosinophils — by 38.0 % ($P < 0.05$), stab neutrophils — by 34.2 % ($P < 0.01$), monocytes — by 25.4 % ($P < 0.05$), circulating immune complexes — by 23.7 % ($P < 0.01$), medium weight molecules — by 23.2 % ($P < 0.05$), nitric oxide — by 27.0 % ($P < 0.05$), IL-2 — by 21.5 % ($P < 0.05$), with an increase in the phagocytic index by 47.8 % ($P < 0.05$), phagocytic number — by 60.0 % ($P < 0.05$), IL-4 — by 39.9 % ($P < 0.05$) and IL-10 — by 31.8 % ($P < 0.05$).

With the combined use of interferon-lambda and biferon-b in the process of clinical recovery, a decrease in the content of leukocytes by 25.9 % ($P < 0.05$) was detected, compared with the use of metricure, eosinophils — by 56.3 % ($P < 0.01$), stab neutrophils — by 54.9 % ($P < 0.001$), monocytes — by 35.6 % ($P < 0.001$), alpha-globulins — by 28.4 % ($P < 0.05$), circulating immune complexes — by 34.2 % ($P < 0.001$), malondialdehyde — by 19.5 % ($P < 0.05$), medium weight molecules — by 27.0 % ($P < 0.05$), nitrogen oxide — by 38.2 % ($P < 0.01$), index of endogenous intoxication — by 22.9 % ($P < 0.05$), TNFα — by 28.3 % ($P < 0.05$), IL-2 — by 28.2 % ($P < 0.05$), with an increase in the level of lymphocytes by 24.1 %, serum lysozyme activity — by 38.9 % ($P < 0.05$), phagocytic index — by 60.9 % ($P < 0.01$), phagocytic number — by 93.3 % ($P < 0.001$), vitamin A — by 38.5 % ($P < 0.05$), vitamin E — by 25.9 % ($P < 0.05$), catalase activity — by 35.7 % ($P < 0.05$), glutathione peroxidase — by 31.2 % ($P < 0.05$), IL-4 — by 49.0 % ($P < 0.01$) and IL-10 — by 41.9 % ($P < 0.01$). The results of morphobiochemical studies of cow blood after treatment with interferon-lambda and biferon-b indicate a decrease in the inflammatory response in the genital organs, endogenous intoxication, lipid peroxidation processes against the background of activation of the cellular link of nonspecific resistance and antioxidant protection.

Table 2

Indicators of the morphobiochemical blood status of cows in the treatment of chronic endometritis

Indicators	Before the treatment	At the end of the therapy course		
		metricure	metricure + biferon-b	interferon-lambda + biferon-b
1	2	3	4	5
Leukocytes, 10^9/L	10.6 ± 0.7	8.5 ± 0.25	7.9 ± 0.44	6.3 ± 0.49*
Eosinophils, %	8.2 ± 0.39	7.1 ± 0.44	4.4 ± 0.22*	3.1 ± 0.15**
Neutrophils, %:				
stab	13.1 ± 0.41	11.1 ± 0.7	7.3 ± 0.52**	5.0 ± 0.51***
segmented	34.6 ± 3.1	37.3 ± 1.9	39.1 ± 3.6	40.2 ± 3.4
Monocytes, %	7.2 ± 0.44	5.9 ± 0.22	4.4 ± 0.19*	3.8 ± 0.21***
Lymphocytes, %	36.9 ± 2.9	38.6 ± 2.4	44.8 ± 2.9	47.9 ± 2.5
Total protein, g/L	74.7 ± 5.2	75.3 ± 6.7	76.8 ± 4.4	79.3 ± 5.2
Albumins, %	42.7 ± 3.8	43.5 ± 3.5	45.9 ± 3.4	46.7 ± 3.1
α-globulins, %	15.3 ± 1.2	14.8 ± 1.1	11.4 ± 0.7	10.6 ± 0.5*
β-globulins, %	23.4 ± 1.9	22.4 ± 1.6	20.8 ± 1.6	19.5 ± 1.4
γ-globulins, %	18.6 ± 1.3	19.3 ± 1.5	21.9 ± 1.7	23.2 ± 1.3
Total Jg, g/L	23.9 ± 1.8	22.1 ± 1.8	19.5 ± 1.3	17.8 ± 1.1
CIC, g/L	0.41 ± 0.02	0.38 ± 0.02	0.29 ± 0.01**	0.25 ± 0.01***
SBA, %	71.3 ± 4.9	72.2 ± 4.5	74.9 ± 4.6	80.6 ± 5.3

Table 2 (the end)

1	2	3	4	5
SLA, µg/ml	1.7 ± 0.12	1.8 ± 0.10	2.1 ± 0.12	2.5 ± 0.19*
LPA, %	66.1 ± 5.5	64.8 ± 4.8	70.6 ± 3.9	77.9 ± 4.1
PhI	4.4 ± 0.23	4.6 ± 0.29	6.8 ± 0.41*	7.4 ± 0.37**
PhN	2.9 ± 0.13	3.0 ± 0.17	4.8 ± 0.29*	5.8 ± 0.33***
Vitamin A, µmol/L	1.2 ± 0.09	1.3 ± 0.11	1.5 ± 0.08	1.8 ± 0.11*
Vitamin E, µmol/L	15.3 ± 1.1	16.6 ± 0.9	19.4 ± 1.5	20.9 ± 1.3*
Vitamin C, µmol/L	20.1 ± 1.7	21.1 ± 1.5	23.4 ± 1.6	26.3 ± 2.1
IEI	45.3 ± 2.1	40.1 ± 2.5	36.5 ± 1.9	30.9 ± 1.9*
Catalase, µM H_2O_2/ L·min·10^3	31.4 ± 2.8	32.2 ± 2.9	37.9 ± 2.3	43.7 ± 2.5*
GPO, µM GSH/ L·min·10^3	12.9 ± 1.1	13.8 ± 0.9	15.8 ± 1.1	18.1 ± 1.1*
MDA, µM/L	3.19 ± 0.25	3.02 ± 0.18	2.87 ± 0.15	2.43 ± 0.14*
MWM, c. u.	1.88 ± 0.11	1.85 ± 0.12	1.42 ± 0.13*	1.35 ± 0.11*
NO_x, µM/L	65.3 ± 5.9	62.9 ± 3.1	45.9 ± 4.3*	38.9 ± 2.5**
TNF_α, pg/ml	297.6 ± 22.1	264.3 ± 19.8	221.6 ± 15.1	189.6 ± 13.7*
IL-2, pg/ml	97.6 ± 8.8	90.3 ± 5.5	70.9 ± 4.4*	64.8 ± 4.9*
IL-4, pg/ml	40.3 ± 2.4	44.9 ± 3.1	62.8 ± 3.3*	66.9 ± 4.2**
IL-10, pg/ml	58.6 ± 5.1	60.4 ± 3.9	79.6 ± 5.5*	85.7 ± 5.7**

* $P < 0.05$
** $P < 0.01$
*** $P < 0.001$ — compared with metricure

CONCLUSION

Therapy of cows with chronic endometritis, involving the use of interferon-lambda and biferon-b in combination with symptomatic and etiotropic drugs, is accompanied by a clinical recovery of 91.6 % of animals, subsequent fertilization of 83.3 %, with a reduction in the duration of infertility by 16.8 days and the fertilization rate — by 0.82. Clinical recovery of animals after the use of recombinant interferons occurs against the background of a decrease in the inflammatory response in the genital organs, endogenous intoxication, lipid peroxidation processes, while simultaneously activating the cellular link of nonspecific resistance and antioxidant protection.

REFERENCES

1. *Gavrish V. G.* Distribution of subclinical endometritis in cows in the Volga region and economic damage / V. G. Gavrish // Status and prospects of scientific research on the prevention and treatment of diseases of farm animals and poultry: Mater. of Scientific Conf., dedicated to the 50th anniversary of Krasnodar. NIVS. — Krasnodar, 1996. — Part 2. — P. 9—10.

2. *Dubovikova M. S.* The distribution of acute and chronic endometritis in cows in agricultural organizations of Krasnodar kray / I. S. Koba, M. B. Reshetka, M. S. Dubovikova // Bulletin of Altai State Agrarian University. — 2016. — No. 2 (136). — P. 103—106.

3. *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 the 35th anniversary of the organization ARVRIPP&T. — Voronezh, 2005. — P. 106—108.

4. *Efimochkina N. R.* Antibiotic resistance of Campylobacter jejuni strains isolated from food products / N. R. Efimochkina, Yu.V. Korotkevich, V. V. Stetsenko et al. // Voprosy pitaniya (Food Issues). — 2017. — V. 86. — No. 1. — P. 17—27.

5. *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.

6. *Misaylov V. D.* Measures to combat infertility and barrenness of cows / V. D. Misay-lov. — Ulan-Ude, 1976. — 77 p.

7. *Turchenko A. N.* Distribution and treatment of endometritis in cows / A. N. Turchenko, A. A. Limarenko // Abstracts of reports of scientific conf. VNIINBZh. — Voronezh, 1994. — P. 139.

8. *Turchenko A. N.* Etiology and treatment of postpartum endometritis in cows / A. N. Turchenko // Veterinariya (Veterinary medicine). — 2001. — No. 7. — P. 35—37.

9. *Ershov F. I.* The interferon system in case of normal and pathological conditions / F. I. Ershov // Nature of interferons. M.: Meditsina (Medicine), 1996. — P. 34—38.

10. *Boxx G. M.*, *Cheng G.* Cell Host & Microbe. 2016. — No. 19 (6). — P. 760—769.

11. *Eschleman E. M.*, *Lenz L. L.* Front Immunol. — 2014. — No. 5. — P. 431.

12. *Prokulevich V. A.* Veterinary drugs based on interferon / V. A. Prokulevich, M. I. Potapovich // Vestnik BGU (Bulletin of BSU). — Series 2. — 2011. — No. 3. — P. 51—54.

13. *Kozlova O. A.* The use of the drug «Biferon-B» to cows during the cow drying-off period and before calving / O. A. Kozlov // Mezhdunarodnyy akademicheskiy vestnik (International Academic Bulletin). — 2019. — 7 (39). — P. 9—13.

14. *Ershov F. I.* Theoretical and applied aspects of the interferon system: on the occasion of the 60th anniversary since the discovery of interferons / F. I. Ershov, A. N. Narovlyanskiy // Voprosy virusologii (Issues of virology). — 2018. — No. 63 (1). — P. 10—18. DOI: 10.18821/0507—4088—2018—63—1—10—18.

15. *Kozlova O. A.* The efficacy of the use of Biferon B in cows during the cow drying off period and before calving / O. A. Kozlova, G. F. Medvedev, M. I. Potapovich, V. A. Prokulevich // In: Actual problems of intensive development of animal husbandry. — Gorki, 2018. — Issue 21. — Part 2. — P. 3—10.

16. *Moiseev A. N.* Biological role of interferon-gamma in the regulation of animal immunity / A. N. Moiseev, P. A. Baryshnikov // Veterinariya (Veterinary medicine). — 2016. — No. 3. — P. 50—54.

17. *Reutova E. A.* Morphological state of the small intestine of piglets with the introduction of the immunocorrector «Vestin» in the mother-fetus system / E. A. Reutova, L. I. Drozdova // Vestnik KrasGAU (Bulletin of KrasSAU). — 2018. — No. 1 (136). — P. 50—55.

18. *Shaposhnikov I. T.* Effect of biferon-b and placenta denatured emulsified on protein metabolism in immunodeficient cows / I. T. Shaposhnikov, G. G. Chusova, V. N. Kotsarev // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2021. — No. 2 (15). — P. 107—116. DOI: 10.17238/issn2541—8203.2021.2.107.

19. *Shakhov A. G.* Effect of biferon-S on protein metabolism, nonspecific resistance and productivity of piglets with growth and development restriction / A. G. Shakhov, L. Yu. Sashnina, K. V. Tarakanova et al. // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2021. — No. 2 (15). — P. 125—136. DOI: 10.17238/issn2541—8203.2021.2.125.

20. *Shaposhnikov I. T.* The effect of preparations of placenta denatured emulsified and Biferon-B on the morphological composition of the blood of immunodeficient cows under adverse environmental conditions / I. T. Shaposhnikov, G. G. Chusova, V. N. Kotsarev // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2021. — No. 1 (14). — P. 16—26. DOI: 10.17238/issn2541—8203.2021.1.16.

21. *Hemann E. A.* Interferon Lambda Genetics and Biology in Regulation of Viral Control / E. A. Hemann, M. Jr. Gale, R. Savan // Front. Immunol. — 2017. — No. 8. — P. 1707. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01707.

22. *Lozhkov A. A.* The key roles of interferon lambda in human molecular defense against respiratory viral infection / A. A. Lozhkov, S. A. Klotchenko, E. S. Ramsay et al. // Pathogens. — 2020. — No. 9 (12). — P. 989. DOI: 10.3310/pathogens9120989.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

V. I. Mikhalev — Doctor of Veterinary Sciences, Head of the Sector;
V. N. Skorikov — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Scientific Associate;
L. Yu. Sashnina — Doctor of Veterinary Sciences, Head of the Laboratory;
V. I. Morgunova — Candidate of Veterinary Sciences, Principal Scientific Associate.

The article was submitted 13.07.2022.

Научная статья
УДК 619:[618.14—002:578.245]:636.2
DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.3.68

ФАРМАКОПРОФИЛАКТИКА ПОСЛЕРОДОВОГО ЭНДОМЕТРИТА У КОРОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРЕПАРАТОВ РЕКОМБИНАНТНЫХ ИНТЕРФЕРОНОВ

Виталий Иванович Михалев✉, Лариса Юрьевна Сашнина, Валентина Ивановна Моргунова, Татьяна Григорьевна Ермолова

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

Аннотация. В статье представлены результаты эффективности применения препаратов рекомбинантных интерферонов для профилактики острого послеродового эндометрита у коров. Установлено, что трехкратное внутримышечное введение проаутовака сухостойным коровам за 30 дней до предполагаемого отела с 10-дневным интервалом в дозе 10,0 мл/животное обеспечивает профилактический эффект у 75,0 % животных. Применение проаутовака сухостойным коровам способствует снижению случаев послеродового эндометрита у коров в 2,4 раза по сравнению с отрицательным контролем, в 1,8 раза — по сравнению с двукратным введением биферона-б и повышению профилактической эффективности соответственно в 1,9 раза и на 8,3 %. Профилактический эффект от введения проаутовака обеспечивается за счет активизации местных факторов защиты, ферментативного и неферментативного звена антиоксидантной системы при снижении интенсивности процессов пероксидации липидов и белков, явлений эндогенной интоксикации.

Ключевые слова: коровы, биферон-б, проаутовак, послеродовой эндометрит, фармакопрофилактика

Акушерские заболевания являются одними из наиболее распространенных патологий, приносящих значительный экономический ущерб экономике производителей молока. Наибольший удельный вес среди акушерской патологии занимают острая субинволюция матки и острый послеродовый эндометрит. Острый послеродовый эндометрит регистрируется у 35,0—74,5 % отелившихся коров [1—3].

Вопросам профилактики послеродового эндометрита у коров в научной литературе посвящено большое количество работ, подавляющее большинство которых сводится к применению антимикробных препаратов. В настоящее время для профилактики послеродового эндометрита применяется множество антимикробных препаратов различного механизма действия, однако, степень регистрации данной патологии имеет тенденцию к увеличению [4—6].

Основным этиологическим фактором острого послеродового эндометрита является развитие в полости матки микрофлоры. Результаты бактериологических исследований экссудата от больных эндометритом коров свидетельствуют о том, что полость матки контаминирована разнообразной микрофлорой: энтеробактерии — 36,3 % случаев, стрептококки — 34,5 %, стафилококки — 18,4 %, дрожжеподобные грибы — 10,8 % [7, 8].

В возникновении и развитии послеродового эндометрита у коров кроме наличия условно-патогенной и патогенной микрофлоры важным условием является состояние естественной резистентности организма. Ослабление общей естественной резистентности организма и местной защиты матки является предрасполагающими факторами развития воспалительного процесса в полости матки [9—11].

Одним из направлений по профилактике послеродовых воспалительных заболеваний матки у коров является применением средств общестимулирующей неспецифической терапии: препараты плаценты, ихтиола, аутогемотерапия и др. К числу таких средств относятся также препараты рекомбинантных интерферонов: миксоферон, биферон-б и др. [12—14]. Поэтому изучение эффективности применения интерфероносодержащих препаратов с целью профилактики послеродового эндометрита у коров является актуальной задачей.

© Михалев В. И., Сашнина Л. Ю., Моргунова В. И., Ермолова Т. Г., 2022

Цель исследований — изучить эффективность применения препаратов рекомбинантных интерферонов для профилактики острого послеродового эндометрита у коров.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследований служили клинически здоровые сухостойные коровы за 30 дней до предполагаемого отела. Животным первой группы (n = 12) инъецировали препарат проаутовак трехкратно с 10-дневным интервалом в дозе 10 мл/животное, второй (n = 12) — биферон-б дважды с 24-часовым интервалом по 5 мл и третьей (n = 10) — 0,9 % раствор хлорида натрия дважды с 24-часовым интервалом по 10 мл.

От 5 коров из каждой группы в день отела и через 8—14 дней после отела отобраны пробы крови для проведения лабораторных исследований. В крови определено содержание лейкоцитов, показатели лейкограммы, общего белка и его фракций, общих иммуноглобулинов, циркулирующих иммунных комплексов, малонового диальдегида, молекул средней массы, витаминов А, Е, С, каротина, индекса эндогенной интоксикации, оксида азота, бактерицидную и лизоцимную активность сыворотки крови, фагоцитарную активность лейкоцитов, активность глютатионпероксидазы, каталазы.

На 8—14 день после отела все включенные в опыт животные подвергнуты клинико-акушерскому исследованию с применением ультразвукового сканера Easy-Scan-3, по результатам которого определена профилактическая эффективность препаратов рекомбинантных интерферонов.

Клинико-акушерские исследования выполнены в соответствии с «Методическим пособием по профилактике бесплодия у высокопродуктивного молочного скота» (Воронеж, 2010), а эхографические — в соответствии с «Методическим пособием по ультразвуковой диагностике беременности и задержки развития эмбриона и плода у коров» (Воронеж, 2013).

Цифровой материал подвергали математической обработке с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Установлено (табл. 1), что после двукратного введения биферона-б сухостойным коровам отмечено снижение содержания эозинофилов в день отела на 25,0 % (P < 0,01) по сравнению с животными контрольной группы, палочкоядерных нейтрофилов — на 9,9 %, моноцитов — на 14,3 %. После применения проаутовака сухостойным коровам изменения показателей морфологического статуса в день отела имели более выраженный характер. Так, в крови коров после применения проаутовака отмечено снижение содержания эозинофилов на 35,0 % (P < 0,001) в сравнении с животными из группы отрицательного контроля, палочкоядерных нейтрофилов — на 19,7 % (P < 0,05), моноцитов — на 28,6 % (P < 0,05).

Таблица 1

Морфологические показатели крови коров при применении препаратов интерферонового ряда

Показатели	Группы животных		
	проаутовак	биферон-б	контроль
1	2	3	4
В день отела			
Лейкоциты, 10^9/л	7,5 ± 0,41	7,8 ± 0,37	8,8 ± 0,45
Эозинофилы, %	2,6 ± 0,15***	3,0 ± 0,13**	4,0 ± 0,18
Нейтрофилы, %:			
палочкоядерные	5,7 ± 0,23*	6,4 ± 0,33	7,1 ± 0,41
сегментоядерные	44,8 ± 2,1	43,9 ± 3,2	42,6 ± 3,6
Моноциты, %	2,5 ± 0,13*	3,0 ± 0,11	3,5 ± 0,19
Лимфоциты, %	44,4 ± 3,8	43,7 ± 3,8	42,8 ± 2,1

Окончание табл. 1

1	2	3	4
Через 8—14 дней после отела			
Лейкоциты, 10^9/л	6,8 ± 0,31**	8,0 ± 0,41	9,4 ± 0,55
Эозинофилы, %	2,7 ± 0,11***	3,8 ± 0,13*	4,5 ± 0,22
Нейтрофилы, %:			
палочкоядерные	7,0 ± 0,38***	8,9 ± 0,23**	13,1 ± 0,62
сегментоядерные	45,1 ± 2,5	43,4 ± 2,6	40,1 ± 3,6
Моноциты, %	2,5 ± 0,13***	3,1 ± 0,15**	4,6 ± 0,26
Лимфоциты, %	42,7 ± 2,7	40,8 ± 2,5	37,7 ± 1,9

* $P < 0,05$
** $P < 0,01$
*** $P < 0,001$ — по сравнению с контролем (0,9 % раствор хлорида натрия)

Через 8—14 дней после отела у коров, которым дважды инъецировали биферон-б в период сухостоя, констатировали снижение содержания эозинофилов на 15,6 % ($P < 0,05$) по сравнению с животными группы отрицательного контроля, палочкоядерных нейтрофилов — на 32,2 % ($P < 0,01$), моноцитов — на 32,6 % ($P < 0,01$). После трехкратного введения проаутовака установлено снижение концентрации лейкоцитов на 27,7 % ($P < 0,01$) по сравнению с животными из группы отрицательного контроля, эозинофилов — на 40,0 % ($P < 0,001$), палочкоядерных нейтрофилов — на 46,6 % ($P < 0,001$), моноцитов — на 45,7 % ($P < 0,001$), при повышении уровня лимфоцитов на 13,3 %, что свидетельствует о снижении воспалительной реакции на протяжении первых двух недель послеродового периода.

Показатели иммунного статуса коров после применения препаратов интерферонового ряда представлены в таблице 2.

Установлено, что после двукратного введения биферона-б сухостойным коровам в день отела установлено незначительное повышение уровня γ-глобулиновой фракции белка на 9,7 %, по сравнению с животными из группы отрицательного контроля, общих иммуноглобулинов — на 4,8 %, лизоцимной активности сыворотки крови — на 10,5 %, фагоцитарного индекса — на 12,5 %, фагоцитарного числа — на 18,5 %. Изменения показателей иммунного статуса на фоне применения проаутовака имеют более выраженный характер. После использования проаутовака у коров в день отела регистрировали снижение содержания циркулирующих иммунных комплексов — на 26,1 % ($P < 0,05$), при повышении уровня γ-глобулиновой фракции белка 14,9 %, общих иммуноглобулинов — на 16,5 %, бактерицидной активности сыворотки крови — на 10,0 %, лизоцимной активности сыворотки крови — на 22,8 % ($P < 0,05$), фагоцитарной активности лейкоцитов — на 21,2 %, фагоцитарного индекса — на 25,0 % ($P < 0,05$), фагоцитарного числа — на 51,9 % ($P < 0,01$). Установленные изменения иммунного статуса в день отела после применения проаутовака свидетельствуют о более высоких показателях гуморального и клеточного звена неспецифической резистентности.

Через 8—14 дней после отела у коров после применения биферона-б содержание циркулирующих иммунных комплексов было ниже на 15,2 % ($P < 0,05$), при повышении лизоцимной активности сыворотки крови — на 16,7, фагоцитарного индекса — на 48,9 % ($P < 0,01$), фагоцитарного числа — на 55,2 % ($P < 0,01$). После введения проаутовака через 8—14 дней после отела уровень циркулирующих иммунных комплексов фиксировали ниже на 21,2 % ($P < 0,01$) по сравнению с животными из группы отрицательного контроля, при одновременном повышении бактерицидной активности сыворотки крови на 13,9 %, лизоцимной активности сыворотки крови — на 38,9 % ($P < 0,02$), фагоцитарной активности лейкоцитов — на 17,9 %, фагоцитарного индекса — на 71,1 % ($P < 0,001$), фаго-

цитарного числа — в 2,03 раза ($P < 0,001$). Изменения показателей иммунного статуса коров после применения проаутовака свидетельствуют о более высокой гуморальной и клеточной защите организма животных во время первых двух недель послеродового периода, что препятствует развитию микрофлоры в полости матки и возникновению эндометрита.

Таблица 2

Иммунологические показатели крови коров при применении препаратов интерферонового ряда

Показатели	Группы животных		
	проаутовак	биферон-б	контроль
В день отела			
Общий белок, г/л	75,1 ± 5,7	76,8 ± 6,1	76,5 ± 4,9
Альбумины, %	41,9 ± 3,9	43,3 ± 3,3	42,9 ± 3,51
α-глобулины, %	12,1 ± 0,9	12,9 ± 0,9	13,5 ± 1,4
β-глобулины, %	19,9 ± 1,7	18,9 ± 1,3	20,9 ± 1,3
γ-глобулины, %	26,1 ± 1,5	24,9 ± 1,9	22,7 ± 1,9
Общие Jg, г/л	26,9 ± 1,1	24,2 ± 1,7	23,1 ± 1,3
ЦИК, г/л	0,17 ± 0,01*	0,21 ± 0,01	0,23 ± 0,01
БАСК, %	81,3 ± 4,4	77,1 ± 6,5	73,9 ± 3,8
ЛАСК, мкг/мл	2,69 ± 0,11*	2,42 ± 0,15	2,19 ± 0,11
ФАЛ, %	81,3 ± 4,5	70,6 ± 5,2	67,1 ± 4,1
ФИ	5,0 ± 0,19*	4,5 ± 0,13	4,0 ± 0,19
ФЧ	4,1 ± 0,11**	3,2 ± 0,19	2,7 ± 0,13
Через 8—14 дней после отела			
Общий белок, г/л	80,9 ± 4,1	79,3 ± 6,6	77,5 ± 5,7
Альбумины, %	38,7 ± 3,1	35,7 ± 2,8	35,8 ± 2,9
α-глобулины, %	13,9 ± 0,7	12,1 ± 0,8	11,6 ± 0,8
β-глобулины, %	20,9 ± 1,5	22,7 ± 1,7	23,8 ± 2,1
γ-глобулины, %	26,5 ± 1,5	29,5 ± 1,8	28,8 ± 1,3
Общие Jg, г/л	20,9 ± 1,1	21,9 ± 1,3	24,3 ± 1,3
ЦИК, г/л	0,26 ± 0,01**	0,28 ± 0,01*	0,33 ± 0,01
БАСК, %	80,5 ± 6,9	74,6 ± 5,1	70,7 ± 5,9
ЛАСК, мкг/мл	2,5 ± 0,15*	2,1 ± 0,11	1,8 ± 0,13
ФАЛ, %	76,1 ± 5,5	66,8 ± 4,5	64,5 ± 3,2
ФИ	7,7 ± 0,28***	6,7 ± 0,25**	4,5 ± 0,22
ФЧ	5,9 ± 0,15***	4,5 ± 0,16**	2,9 ± 0,11

* $P < 0,05$
** $P < 0,01$
*** $P < 0,001$ — по сравнению с контролем (0,9 % раствор хлорида натрия)

Показатели системы ПОЛ-АОЗ коров после применения препаратов, содержащих рекомбинантные интерфероны, представлены в таблице 3.

Установлено, что в день отела после двукратного введения биферона-б сухостойным коровам индекс эндогенной интоксикации регистрировали ниже на 12,9 % ($P < 0,05$), по сравнению с животными из группы отрицательного контроля, содержание малонового диальдегида — на 13,8 % ($P < 0,05$), молекул средней массы — на 27,3 % ($P < 0,01$), при повышении уровня витамина А на 27,3 %, активности каталазы и глутатионпероксидазы — соответственно на 16,2 и 27,1 % ($P < 0,05$).

Таблица 3

Показатели системы ПОЛ-АОЗ коров при применении препаратов интерферонового ряда

Показатели	Группы животных		
	проаутовак	биферон-б	контроль
В день отела			
Витамин А, мкМ/л	1,6 ± 0,10**	1,4 ± 0,11	1,1 ± 0,05
Витамин Е, мкМ/л	24,3 ± 1,1*	21,7 ± 1,7	19,2 ± 1,4
Витамин С, мкМ/л	34,8 ± 1,6	32,9 ± 1,7	31,2 ± 2,9
ИЭИ	26,4 ± 1,7*	32,5 ± 1,9*	37,3 ± 2,5
Каталаза, мкМ H_2O_2/л·мин·10^3	55,7 ± 3,3*	48,9 ± 3,1	42,1 ± 2,6
ГПО, мкМ GSH/л·мин·10^3	18,1 ± 1,1**	16,4 ± 1,1*	12,9 ± 0,9
МДА, мкМ/л	2,21 ± 0,11*	2,44 ± 0,11*	2,83 ± 0,15
МСМ, у. е.	0,72 ± 0,06***	0,88 ± 0,05**	1,21 ± 0,07
NO_x, мкМ/л	50,9 ± 4,5*	58,1 ± 3,5	68,2 ± 4,1
Через 8—14 дней после отела			
Витамин А, мкМ/л	1,8 ± 0,11**	1,4 ± 0,09	1,2 ± 0,06
Витамин Е, мкМ/л	22,9 ± 1,5*	19,5 ± 1,3	16,2 ± 1,4
Витамин С, мкМ/л	31,9 ± 2,2*	28,1 ± 2,1	24,1 ± 1,5
ИЭИ	35,7 ± 2,7	39,1 ± 2,9	44,9 ± 3,1
Каталаза, мкМ H_2O_2/л·мин·10^3	48,1 ± 3,2*	42,1 ± 3,3	35,9 ± 2,4
ГПО, мкМ GSH/л·мин·10^3	16,1 ± 1,2*	13,3 ± 1,2	10,1 ± 0,7
МДА, мкМ/л	2,78 ± 0,16*	3,12 ± 0,22	3,69 ± 0,19
МСМ, у. е.	1,23 ± 0,09*	1,53 ± 0,13	1,94 ± 0,12
NO_x, мкМ/л	38,4 ± 3,1**	45,9 ± 3,5*	61,3 ± 5,1

* $P < 0,05$
** $P < 0,01$
*** $P < 0,001$ — по сравнению с контролем (0,9 % раствор хлорида натрия)

После трехкратного введения проаутовака у животных в день отела уровень малонового диальдегида был ниже на 21,9 % ($P < 0,05$), молекул средней массы — на 40,5 % ($P < 0,001$), индекс эндогенной интоксикации — на 29,2 % ($P < 0,05$), оксид азота — на 25,4 % ($P < 0,05$), при повышении содержания витамина А на 45,5 % ($P < 0,01$), витамина Е — на 26,6 % ($P < 0,05$), активности каталазы и глутатионпероксидазы — соответственно на 32,3 % ($P < 0,05$) и 40,3 % ($P < 0,01$).

Таким образом, после применения сухостойным коровам препаратов интерферонового ряда, особенно проаутовака, отмечено снижение интенсивности процессов пероксидации липидов и белков, явлений эндогенной интоксикации при одновременной активизации антиоксидантной системы.

Через две недели после отела на фоне двукратной инъекции биферона-б содержание малонового диальдегида ниже на 15,4 %, молекул средней массы — на 21,1 %, оксида азота — на 25,1 % ($P < 0,05$), индекса эндогенной интоксикации — на 12,9 %, при повышении уровня витамина Е на 20,4 %, витамина С — на 16,6 %, активности ГПО — на 31,7 %.

После применения проаутовака сухостойным коровам через 8—14 дней после отела содержание малонового диальдегида ниже на 24,7 % ($P < 0,05$) по сравнению с животными группы отрицательного контроля, молекул средней массы — на 36,6 % ($P < 0,05$), оксида азота — на 37,4 % ($P < 0,01$), при повышении концентрации витамина А на 50,0 % ($P < 0,01$), витамина Е — на 41,4 % ($P < 0,05$), витамина С — на 32,4 % ($P < 0,01$), активности каталазы — на 34,0 % ($P < 0,05$), глутатионпероксидазы — на 59,4 % ($P < 0,05$), свидетельствующее об активизации ферментативного и неферментативного звена антиоксидантной системы, повышении тонуса гладкой мускулатуры матки, что клинически проявилось снижением числа случаев заболеваемости коров послеродовым эндометритом.

Результаты клинической эффективности применения проаутовака для профилактики послеродового эндометрита у коров представлены в таблице 4.

Таблица 4

Эффективность применения проаутовака для профилактики послеродового эндометрита у коров

Группа	Кол-во коров	Заболело эндометритом		Эффективность, %
		коров	%	
1. Проаутовак	12	3	25,0	75,0
2. Биферон-б	12	4	33,3	66,7
3. Отрицательный контроль	10	6	60,0	40,0

Установлено, что в группе отрицательного контроля эндометрит диагностирован у 60,0 % коров после родов. После двукратного применения биферона-б эндометрит диагностирован у 33,3 % коров, что в 1,8 раза меньше по сравнению с отрицательным контролем. Наиболее эффективным оказалось применение проаутовака трижды с 10-дневным интервалом, обеспечивающее снижение случаев послеродового эндометрита у коров в 2,4 раза по сравнению с отрицательным контролем и повышение профилактической эффективности в 1,9 раза.

Таким образом, трехкратное введение коровам препарата проаутовак за 30 дней до предполагаемого отела с 10-дневным интервалом в дозе 10 мл/животное обеспечивает снижение случаев послеродового эндометрита в 2,4 раза, активизацию местных факторов защиты, ферментативного и неферментативного звена антиоксидантной системы, повышение тонуса гладкой мускулатуры матки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Трехкратное внутримышечное введение проаутовака сухостойным коровам за 30 дней до предполагаемого отела с 10-дневным интервалом в дозе 10,0 мл/животное профилактирует развитие острого послеродового эндометрита у 75,0 % животных, что на 8,3 % выше по сравнению с двукратным введением биферона-б и в 1,9 раза — по сравнению с отрицательным контролем. Профилактический эффект от введения сухостойным коровам проаутовака обеспечивается за счет активизации местных факторов защиты, ферментативного и неферментативного звена антиоксидантной системы, повышении тонуса гладкой мускулатуры матки при сниже-

нии интенсивности процессов пероксидации липидов и белков, явлений эндогенной интоксикации.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Турченко А. Н.* Распространение и лечение эндометритов у коров / А. Н. Турченко, А. А. Лимаренко // Тезисы докл. науч. конф. ВНИИНБЖ. — Воронеж, 1994. — С. 139.

2. *Гавриш В. Г.* Применение препаратов с нитрофуранами для терапии и профилактики эндометритов у коров / В. Г. Гавриш // Тез. докл. научно-практ. конф. профессорско-препод. состава, аспирантов и стажеров СГАВМ и БТ. — Саратов, 1996. — Ч. 1. — С. 5—6.

3. *Михалев В. И.* Принципы рациональной фармакотерапии послеродовых заболеваний у коров / В. И. Михалев // Матер. международ. научно-практич. конф., посвящ. 85-летию со дня рожд. проф. Г. А. Черемисинова и 50-летию создания Воронежской школы ветеринарных акушеров «Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизведения животных» 18—19 октября 2012 г. — Воронеж, 2012. — С. 328—332.

4. *Авдеенко В. С.* Новые препараты для лечения и профилактики эндометрита у коров/ В. С. Авдеенко, В. Г. Гавриш // Состояние и перспективы науч. исслед. по профилактике и лечению болезней с. — х. животных и птиц/ Матер. науч. конф., посвящ. 50-летию Краснодар. НИИВС. — Краснодар. — 1996. — ч. II. — С. 3 — 4.

5. *Кузьмич Р. Г.* Тилозинокар — эффективное средство для лечения коров, больных послеродовыми эндометритами / Р. Г. Кузьмич, Н. Г. Толкач, С. А. Кузьмин // Учен. зап. Витеб. гос. акад. вет. медицины. — 1998. — Т. 34. — С. 47—49.

6. *Ерин Д. А.* Пенный аэрозольный препарат для лечения и профилактики послеродового эндометрита у коров / Д. А. Ерин, В. И. Михалев, Г. А. Востроилова // Зоотехния. — 2010. — № 5. — С. 29.

7. *Пархоменко Ю. С.* Чувствительность культур условно-патогенных бактерий при послеродовых эндометритах коров к антимикробным препаратам / Ю. С. Пархоменко, О. А. Манжурина, Е. В. Семенова и др. // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2020. — № 3 (12). — С. 114—124. DOI: 10.17238/issn2541—8203.2020.3.114.

8. *Филатов А. В.* Применение препарата биогель 10 для профилактики эндометрита у коров / А. В. Филатов // Тез. докл. научно-практ. конф. ученых и специалистов АПК. — Пермь, 1998. — С. 172—173.

9. *Ильинский Е. В.* Профилактика бесплодия коров в условиях интенсификации молочного скотоводства. Краснодар: Кн. из-во, 1983. — 170 с.

10. *Акназаров Б. К.* Уровень иммуноглобулинов в маточном секрете у коров в норме и при некоторых воспалительных заболеваниях матки / Б. К. Акназаров // Матер. Всерос. науч. и учебно-метод. конф. по акушерству, гинекологиии и биотехнике размножения животных 25—27 октября 1994 г., г. Воронеж. — Воронеж, 1994. — С. 27.

11. *Martines Y.* Reproductive disorders in cattle: Respective influence of herds, seasons milk yield and parit / Y. Martines, M. Thibier // Theriogenology 22. — 1984. — P. 239.

12. *Варенников М.* Применение интерферонов для профилактики ранней эмбриональной смертности у молочных коров / М. Варенников, А. Гольдина, А. Хмылов, А Оборин // Молочное и мясное скотоводство. — 2013. — № 5. — С. 27—29.

13. *Скориков В. Н.* Применение бычьих рекомбинантных α-, γ-интерферонов и простагландина $F_{2\alpha}$ для профилактики острого послеродового эндометрита у коров / В. Н. Скориков // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2019. — № 2 (7). — С. 51—55. DOI: 10.17238/issn2541—8203.2019.2.51.

14. *Шапошников И. Т.* Показатели морфологического статуса крови и белкового обмена у коров, находящихся в условиях экологического неблагополучия, после применения интерферонов в сочетании с Аминоселетоном / И. Т. Шапошников, В. Н. Коцарев, Г. Г. Чусова // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. — 2020. — № 3. — С. 190—194. DOI: 10.17238/issn2072—6023.2020.3.190.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

В. И. Михалев — доктор ветеринарных наук, заведующий сектором;
Л. Ю. Сашнина — доктор ветеринарных наук, заведующая лабораторией;
В. И. Моргунова — кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник;
Т. Г. Ермолова — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник.

Статья поступила в редакцию 12.07.2022 г.

Original article
UDC 619:[618.14—002:578.245]:636.2

PHARMACOPROPHYLAXIS OF POSTPARTUM ENDOMETRITIS IN COWS USING RECOMBINANT INTERFERON DRUGS

Vitaliy Ivanovich Mikhalev✉, Larisa Yuryevna Sashnina, Valentina Ivanovna Morgunova, Tatyana Grigoryevna Ermolova

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

Abstract. The article presents the results of the efficacy of the use of recombinant interferon drugs for the prevention of acute postpartum endometritis in cows. It has been established that a threefold intramuscular administration of proautovak to dry cows at a dose of 10.0 ml/animal 30 days before the expected calving with a 10-day interval provides a preventive effect in 75.0 % of animals. The use of proautovak in dry cows helps to reduce the incidence of postpartum endometritis in cows by 2.4 times, compared to the negative control; by 1.8 times, compared to a twofold administration of biferon-b; and increase of preventive efficiency by 1.9 times and by 8.3 %, respectively. The prophylactic effect of proautovak introduction is provided by the activation of local protective factors, the enzymatic and non-enzymatic link of the antioxidant system, while reducing the intensity of lipid and protein peroxidation processes, the phenomena of endogenous intoxication.
Keywords: cows, biferon-b, proautovak, postpartum endometritis, pharmacoprophylaxis

Obstetric diseases are one of the most common pathologies that cause significant economic damage to the economy of milk producers. The largest share among obstetric pathologies is occupied by acute uterine subinvolution and acute postpartum endometritis. Acute postpartum endometritis is recorded in 35.0—74.5 % of calving cows [1—3].

A great number of works is devoted to the prevention of postpartum endometritis in cows in the scientific literature, the vast majority of which is reduced to the use of antimicrobial drugs. Currently, many antimicrobial drugs of various mechanisms of action are used to prevent postpartum endometritis, however, the degree of this pathology registration tends to increase [4—6].

The main etiological factor of acute postpartum endometritis is the development of microflora in the uterine cavity. The results of bacteriological studies of exudate from cows with endometritis indicate that the uterine cavity is contaminated with a variety of microflora: enterobacteria — 36.3 % of cases, streptococci — 34.5 %, staphylococci — 18.4 %, yeast-like fungi — 10.8 % [7, 8]. In the occurrence and development of postpartum endometritis in cows, in addition to the presence of opportunistic and pathogenic microflora, an important condition is the state of natural resistance of the body. Weakening of the general natural resistance of the body and local defense of the uterus are the factors predisposing for the development of the inflammatory process in the uterine cavity [9—11].

One of the directions for the prevention of postpartum inflammatory diseases of the uterus in cows is the use of general stimulating non-specific therapy: placenta drugs, ichthiol, autohemotherapy, etc. These agents also include recombinant interferon drugs: mixoferon, biferon-b, etc. [12—14].

Therefore, the study of the efficacy of the use of interferon-containing drugs for the prevention of postpartum endometritis in cows is an urgent task.

The objective of the research is to study the efficacy of the use of recombinant interferon drugs for the prevention of acute postpartum endometritis in cows.

MATERIAL AND METHODS

The object of research were clinically healthy dry cows 30 days before the expected calving. The animals of the first group (n = 12) were injected with the drug proautovak at a dose of 10 ml/animal three times with a 10-day interval, the animals of the second group (n = 12) — biferon-b at a dose of 5 ml twice with a 24-hour interval and the animals of the third group (n = 10) — 0.9 % solution of sodium chloride at a dose of 10 ml twice with a 24-hour interval.

Blood samples were taken from 5 cows from each group on the day of calving and 8—14 days after calv-

© Mikhalev V. I., Sashnina L. Y., Morgunova V. I., Ermolova T. G., 2022

ing for laboratory research. In the blood, the content of leukocytes, leukogram, total protein and its fractions, total immunoglobulins, circulating immune complexes, malondialdehyde, medium weight molecules, vitamins A, E, C, carotene, endogenous intoxication index, nitric oxide, serum bactericidal and lysozyme activity, phagocytic activity of leukocytes, activity of glutathione peroxidase, catalase were determined.

On day 8—14 after calving, all animals included in the experiment were subjected to clinical and obstetric examination using an Easy-Scan-3 ultrasonic scanner, the results of which determined the preventive efficacy of recombinant interferon drugs. Clinical and obstetric studies were performed in accordance with the Methodological Guide for the Prevention of Infertility in High-Yielding Dairy Cattle (Voronezh, 2010) and echographic studies were performed in accordance with the Methodological Guide for the Ultrasound Diagnosis of Pregnancy and Intrauterine Growth Restriction of the Embryo and Fetus in Cows (Voronezh, 2013).

The digital material was subjected to mathematical processing using the Statistica 6.0 software package.

STUDY RESULTS

It was established (Table 1) that after a twofold injection of biferon-b to dry cows, a decrease in the content of eosinophils by 25.0 % ($P < 0.01$) on the day of calving was noted, compared to the animals of the control group, stab neutrophils — by 9.9 %, monocytes — by 14.3 %. After the application of proautovak to dry cows, the changes in the morphological status indicators on the day of calving were more pronounced. So, in the blood of cows after the use of proautovak, a decrease in the content of eosinophils by 35.0 % ($P < 0.001$) was noted, compared to the animals from the negative control group, stab neutrophils — by 19.7 % ($P < 0.05$), monocytes — by 28.6 % ($P < 0.05$).

Table 1

Morphological blood indicators of cows when using interferon drugs

Indicators	Groups of animals		
	proautovak	biferon-b	control
On the day of calving			
Leukocytes, 10^9/L	7.5 ± 0.41	7.8 ± 0.37	8.8 ± 0.45
Eosinophils, %	2.6 ± 0.15***	3.0 ± 0.13**	4.0 ± 0.18
Neutrophils, %:			
stab	5.7 ± 0.23*	6.4 ± 0.33	7.1 ± 0.41
segmented	44.8 ± 2.1	43.9 ± 3.2	42.6 ± 3.6
Monocytes, %	2.5 ± 0.13*	3.0 ± 0.11	3.5 ± 0.19
Lymphocytes, %	44.4 ± 3.8	43.7 ± 3.8	42.8 ± 2.1
8—14 days after calving			
Leukocytes, 10^9/L	6.8 ± 0.31**	8.0 ± 0.41	9.4 ± 0.55
Eosinophils, %	2.7 ± 0.11***	3.8 ± 0.13*	4.5 ± 0.22
Neutrophils, %:			
stab	7.0 ± 0.38***	8.9 ± 0.23**	13.1 ± 0.62
segmented	45.1 ± 2.5	43.4 ± 2.6	40.1 ± 3.6
Monocytes, %	2.5 ± 0.13***	3.1 ± 0.15**	4.6 ± 0.26
Lymphocytes, %	42.7 ± 2.7	40.8 ± 2.5	37.7 ± 1.9

* $P < 0.05$
** $P < 0.01$
*** $P < 0.001$ — compared to the control (0.9 % sodium chloride solution)

8—14 days after calving, in the cows that were twice injected with biferon-b during the dry period, a decrease in the content of eosinophils by 15.6 % ($P < 0.05$) was noted, compared to the animals of the negative control group, stab neutrophils — by 32.2 % ($P < 0.01$), monocytes — by 32.6 % ($P < 0.01$). After a threefold administration of proautovak, a decrease in the concentration of leukocytes by 27.7 % ($P < 0.01$) was found, compared to the animals from the negative control group, eosinophils — by 40.0 % ($P < 0.001$), stab neutrophils — by 46.6 % ($P < 0.001$), monocytes — by 45.7 % ($P < 0.001$), with an increase in the level of lymphocytes by 13.3 %, which indicated a decrease in the inflammatory response during the first two weeks of the postpartum period.

The indicators of the immune status of cows after the use of interferon drugs are presented in Table 2.

It was found that after a twofold injection of biferon-b to dry cows on the day of calving, a slight increase in the level of the γ-globulin protein fraction by 9.7 % was found, compared to the animals from the negative control group, total immunoglobulins — by 4.8 %, serum lysozyme activity — by 10.5 %, phagocytic index — by 12.5 %, phagocytic number — by 18.5 %. Changes in the indicators of the immune status against the background of the use of proautovak are more pronounced. After the use of proautovak in cows on the day of calving, a decrease in the content of circulating immune complexes by 26.1 % ($P < 0.05$) was recorded, with an increase in the level of the γ-globulin protein fraction by 14.9 %, total immunoglobulins — by 16.5 %, serum bactericidal activity — by 10.0 %, serum lysozyme activity — by 22.8 % ($P < 0.05$), leukocyte phagocytic activity — by 21.2 %, phagocytic index — by 25.0 % ($P < 0.05$), phagocytic number — by 51.9 % ($P < 0.01$).

The established changes in the immune status on the day of calving after the use of proautovak indicate higher rates of humoral and cellular non-specific resistance.

Table 2

Immunological blood indicators of cows when using interferon drugs

Indicators	Groups of animals		
	proautovak	biferon-b	control
1	2	3	4
On the day of calving			
Total protein, g/L	75.1 ± 5.7	76.8 ± 6.1	76.5 ± 4.9
Albumins, %	41.9 ± 3.9	43.3 ± 3.3	42.9 ± 3.51
α-globulins, %	12.1 ± 0.9	12.9 ± 0.9	13.5 ± 1.4
β-globulins, %	19.9 ± 1.7	18.9 ± 1.3	20.9 ± 1.3
γ-globulins, %	26.1 ± 1.5	24.9 ± 1.9	22.7 ± 1.9
Total Jg, g/L	26.9 ± 1.1	24.2 ± 1.7	23.1 ± 1.3
CIC, g/L	0.17 ± 0.01*	0.21 ± 0.01	0.23 ± 0.01
SBA, %	81.3 ± 4.4	77.1 ± 6.5	73.9 ± 3.8
SLA, μg/ml	2.69 ± 0.11*	2.42 ± 0.15	2.19 ± 0.11
LPA, %	81.3 ± 4.5	70.6 ± 5.2	67.1 ± 4.1
PhI	5.0 ± 0.19*	4.5 ± 0.13	4.0 ± 0.19
PhN	4.1 ± 0.11**	3.2 ± 0.19	2.7 ± 0.13
8—14 days after calving			
Total protein, g/L	80.9 ± 4.1	79.3 ± 6.6	77.5 ± 5.7

Table 2 (the end)

1	2	3	4
Albumins, %	38.7 ± 3.1	35.7 ± 2.8	35.8 ± 2.9
α-globulins, %	13.9 ± 0.7	12.1 ± 0.8	11.6 ± 0.8
β-globulins, %	20.9 ± 1.5	22.7 ± 1.7	23.8 ± 2.1
γ-globulins, %	26.5 ± 1.5	29.5 ± 1.8	28.8 ± 1.3
Total Jg, g/L	20.9 ± 1.1	21.9 ± 1.3	24.3 ± 1.3
CIC, g/L	0.26 ± 0.01**	0.28 ± 0.01*	0.33 ± 0.01
SBA, %	80.5 ± 6.9	74.6 ± 5.1	70.7 ± 5.9
SLA, μg/ml	2.5 ± 0.15*	2.1 ± 0.11	1.8 ± 0.13
LPA, %	76.1 ± 5.5	66.8 ± 4.5	64.5 ± 3.2
PhI	7.7 ± 0.28***	6.7 ± 0.25**	4.5 ± 0.22
PhN	5.9 ± 0.15***	4.5 ± 0.16**	2.9 ± 0.11

* $P < 0.05$
** $P < 0.01$
*** $P < 0.001$ — compared to the control (0.9 % sodium chloride solution)

8—14 days after calving, in cows after the use of biferon-b, the content of circulating immune complexes was lower by 15.2 % ($P < 0.05$), with an increase in serum lysozyme activity by 16.7, phagocytic index — by 48.9 % ($P < 0.01$), phagocytic number — by 55.2 % ($P < 0.01$).

After the introduction of proautovak 8—14 days after calving, the level of circulating immune complexes was fixed lower by 21.2 % ($P < 0.01$), compared to the animals from the negative control group, while increasing serum bactericidal activity by 13.9 %, serum lysozyme activity — by 38.9 % ($P < 0.02$), leukocyte phagocytic activity — by 17.9 %, phagocytic index — by 71.1 % ($P < 0.001$), phagocytic number — 2.03 times ($P < 0.001$). Changes in the indicators of the immune status of cows after the use of proautovak indicate a higher humoral and cellular protection of the animal organism during the first two weeks of the postpartum period, which prevents the development of microflora in the uterine cavity and the occurrence of endometritis.

Indicators of the LPO-AOS of cows after the use of drugs containing recombinant interferons are presented in Table 3.

Table 3

Indicators of the LPO-AOS of cows when using interferon drugs

Indicators	Groups of animals		
	proautovak	biferon-b	control
1	2	3	4
On the day of calving			
Vitamin A, μM/L	1.6 ± 0.10**	1.4 ± 0.11	1.1 ± 0.05
Vitamin E, μM/L	24.3 ± 1.1*	21.7 ± 1.7	19.2 ± 1.4

Table 3 (the end)

1	2	3	4
Vitamin C, μM/L	34.8 ± 1.6	32.9 ± 1.7	31.2 ± 2.9
IEI	26.4 ± 1.7*	32.5 ± 1.9*	37.3 ± 2.5
Catalase, μM H_2O_2/ L·min·10^3	55.7 ± 3.3*	48.9 ± 3.1	42.1 ± 2.6
GPO, μM GSH/L·min·10^3	18.1 ± 1.1**	16.4 ± 1.1*	12.9 ± 0.9
MDA, μM/L	2.21 ± 0.11*	2.44 ± 0.11*	2.83 ± 0.15
MWM, c. u.	0.72 ± 0.06***	0.88 ± 0.05**	1.21 ± 0.07
NO_x, μM/L	50.9 ± 4.5*	58.1 ± 3.5	68.2 ± 4.1
8—14 days after calving			
Vitamin A, μM/L	1.8 ± 0.11**	1.4 ± 0.09	1.2 ± 0.06
Vitamin E, μM/L	22.9 ± 1.5*	19.5 ± 1.3	16.2 ± 1.4
Vitamin C, μM/L	31.9 ± 2.2*	28.1 ± 2.1	24.1 ± 1.5
IEI	35.7 ± 2.7	39.1 ± 2.9	44.9 ± 3.1
Catalase, μM/L H_2O_2/ L·min·10^3	48.1 ± 3.2*	42.1 ± 3.3	35.9 ± 2.4
GPO, μM/L GSH/ L·min·10^3	16.1 ± 1.2*	13.3 ± 1.2	10.1 ± 0.7
MDA, μM/L	2.78 ± 0.16*	3.12 ± 0.22	3.69 ± 0.19
MWM, c. u.	1.23 ± 0.09*	1.53 ± 0.13	1.94 ± 0.12
NO_x, μM/L	38.4 ± 3.1**	45.9 ± 3.5*	61.3 ± 5.1

* $P < 0.05$
** $P < 0.01$
*** $P < 0.001$ — compared to the control (0.9 % sodium chloride solution)

It was found that on the day of calving after a twofold injection of biferon-b to dry cows, the index of endogenous intoxication was recorded lower by 12.9 % ($P < 0.05$), compared to the animals from the negative control group, content of malondialdehyde — by 13.8 % ($P < 0.05$), medium weight molecules — by 27.3 % ($P < 0.01$), with an increase in vitamin A levels by 27.3 %, catalase and glutathione peroxidase activity — by 16.2 and 27.1 % ($P < 0.05$), respectively.

After a threefold administration of proautovak in the animals on the day of calving, the level of malondialdehyde was lower by 21.9 % ($P < 0.05$), medium weight molecules — by 40.5 % ($P < 0.001$), index of endogenous intoxication — by 29.2 % ($P < 0.05$), nitric oxide — by 25.4 % ($P < 0.05$), with an increase in the content of vitamin A by 45.5 % ($P < 0.01$), vitamin E — by 26.6 % ($P < 0.05$), catalase and glutathione peroxidase activity — by 32.3 % ($P < 0.05$) and 40.3 % ($P < 0.01$), respectively.

Thus, after the use of interferon drugs, especially proautovak, to dry cows, a decrease in the intensity of lipid and protein peroxidation processes, endogenous intoxication phenomena was noted with a simultaneous activation of the antioxidant system.

Two weeks after calving, against the background of a twofold injection of biferon-b, the content of

malondialdehyde was lower by 15.4 %, medium weight molecules — by 21.1 %, nitric oxide — by 25.1 % ($P < 0.05$), index of endogenous intoxication — by 12.9 %, with an increase in the level of vitamin E by 20.4 %, vitamin C — by 16.6 %, GPO activity — by 31.7 %.

After the application of proautovak to dry cows 8—14 days after calving, the content of malondialdehyde was lower by 24.7 % ($P < 0.05$), compared to the animals of the negative control group, medium weight molecules — by 36.6 % ($P < 0.05$), nitric oxide — by 37.4 % ($P < 0.01$), with an increase in the concentration of vitamin A by 50.0 % ($P < 0.01$), vitamin E — by 41.4 % ($P < 0, 05$), vitamin C — by 32.4 % ($P < 0.01$), catalase activity — by 34.0 % ($P < 0.05$), glutathione peroxidase — by 59.4 % ($P < 0.05$), indicating the activation of the enzymatic and non-enzymatic link of the antioxidant system, an increase in the tone of the smooth muscles of the uterus, which was clinically manifested by a decrease in the incidence of cows with postpartum endometritis.

The results of the clinical efficacy of proautovak for the prevention of postpartum endometritis in cows are presented in Table 4.

It was found that in the negative control group, endometritis was diagnosed in 60.0 % of cows after calving. After a twofold application of biferon-b, endometritis was diagnosed in 33.3 % of cows, which was by 1.8 times less, compared to the negative control. The most effective was a threefold use of proautovak with a 10-day interval, providing a 2.4-fold reduction in cases of postpartum endometritis in cows, compared to the negative control and an increase in preventive efficacy by 1.9 times.

Table 4

Efficacy of proautovak for the prevention of postpartum endometritis in cows

Group	Number of cows	Got sick with endometritis		Efficacy, %
		cows	%	
1. Proautovak	12	3	25.0	75.0
2. Biferon-b	12	4	33.3	66.7
3. Negative control	10	6	60.0	40.0

Thus, threefold administration of proautovak to cows 30 days before the expected calving with a 10-day interval at a dose of 10 ml/animal provides a 2.4-fold reduction in cases of postpartum endometritis, activation of local defense factors, enzymatic and non-enzymatic components of the antioxidant system, increasing the tone of the uterine smooth muscles.

CONCLUSION

Threefold intramuscular administration of proautovak to dry cows at a dose of 10.0 ml/animal 30 days before the expected calving with a 10-day interval prevents the development of acute postpartum endometritis in 75.0 % of animals, which is by 8.3 % higher, compared to a twofold introduction of biferon-b and by 1.9 times, compared to the negative control. The prophylactic effect of the introduction of proautovak to dry cows is ensured by activating local protective factors, the enzymatic and non-enzymatic link of the antioxidant system, increasing the tone of the uterine smooth muscles while reducing the intensity of lipid and protein peroxidation processes, the phenomena of endogenous intoxication.

REFERENCES

1. *Turchenko A. N.* Distribution and treatment of endometritis in cows / A. N. Turchenko, A. A. Limarenko // Abstracts of the reports of the scientific conf. of VNIINBZH. — Voronezh, 1994. — P. 139.

2. *Gavrish V. G.* The use of drugs with nitrofurans for the treatment and prevention of endometritis in cows / V. G. Gavrish // Abstracts of the reports of scientific and practical. conf. of academic teaching staff, postgraduate students and trainees of SGAVM and BT. — Saratov, 1996. — Part 1. — P. 5—6.

3. *Mikhalev V. I.* Principles of rational pharmacotherapy for postpartum diseases in cows / V. I. Mikhalev // 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 «Modern problems of veterinary obstetrics and animal reproduction biotechnology» October 18—19, 2012 — Voronezh, 2012. — P. 328—332.

4. *Avdeenko V. S.* New drugs for the treatment and prevention of endometritis in cows / V. S. Avdeenko, V. G. Gavrish // Status and prospects of scientific research on prevention and treatment of diseases of farm animals and poultry / Mater. of scientific conf., dedicated to the 50th anniversary of Krasnodar NIIVS. — Krasnodar. — 1996. — part II. — P. 3—4.

5. *Kuzmich R. G.* Tylosinokar is an effective remedy for the treatment of cows with postpartum endometritis / R. G. Kuzmich, N. G. Tolkach, S. A. Kuzmin // Transactions of Vitebsk state acad. of vet. medicine. — 1998. — V. 34. — P. 47—49.

6. *Erin D. A.* Foam aerosol drug for the treatment and prevention of postpartum endometritis in cows / D. A. Erin, V. I. Mikhalev, G. A. Vostroilova // Zootekniya (Zoo-technics). — 2010. — No. 5. — P. 29.

7. *Parkhomenko Yu.S.* Sensitivity of opportunistic bacteria cultures to antimicrobial drugs in case of postpartum endometritis of cows / Yu.S. Parkhomenko, O. A. Manzhurina, E. V. Semenova et al. // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2020. — No. 3 (12). — P. 114—124. DOI: 10.17238/issn2541—8203.2020.3.114.

8. *Filatov A. V.* The use of the drug biogel 10 for the prevention of endometritis in cows / A. V. Filatov // Abstracts of the reports of scientific and practical conf. of scientists and specialists of the agroindustrial complex. — Perm, 1998. — P. 172—173.

9. *Ilyinskiy E. V.* Prevention of infertility in cows under conditions of intensification of dairy cattle breeding. Krasnodar: Book. Iz-vo, 1983. — 170 p.

10. *Aknazarov B. K.* The level of immunoglobulins in the uterine secretion in healthy cows and in case of some inflammatory uterine diseases / B. K. Aknazarov // Mater. of All-Russian research and methodological conf. devoted to obstetrics, gynecology and biotechnology of animal reproduction. October 25—27, 1994, Voronezh. — Voronezh, 1994. — P. 27.

11. *Martines Y.* Reproductive disorders in cattle: Respective influence of herds, seasons milk yield and parit / Y. Martines, M. Thibier // Theriogenology 22. — 1984. — P. 239.

12. *Varenikov M.* The use of interferons for the prevention of early embryonic mortality in dairy cows / M. Varenikov, A. Goldina, A. Khmylov, A. Oborin // Molochnoe i myasnoe skotovodstvo (Dairy and beef cattle breeding). — 2013. — No. 5. — P. 27—29.

13. *Skorikov V. N.* The use of bovine recombinant interferons -α, — γ and prostaglandin $F2_{\alpha}$ for the prevention of acute postpartum endometritis in cows / V. N. Skorikov // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2019. — No. 2 (7). — P. 51—55. DOI: 10.17238/issn2541—8203.2019.2.51.

14. *Shaposhnikov I. T.* Indicators of the morphological blood status and protein metabolism in cows under adverse environmental conditions after the use of interferons in combination with Aminoseleton / I. T. Shaposhnikov, V. N. Kotsarev, G. G. Chusova // Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii (Normative-Legal Regulatory Issues in Veterinary Medicine). — 2020. — No. 3. — P. 190—194. DOI: 10.17238/issn2072—6023.2020.3.190.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

V. I. Mikhalev — Doctor of Veterinary Sciences, Head of the Sector;
L. Yu. Sashnina — Doctor of Veterinary Sciences, Head of the Laboratory;
V. I. Morgunova — Candidate of Veterinary Sciences, Principal Scientific Associate;
T. G. Ermolova — Candidate of Biological Sciences, Senior Scientific Associate.

The article was submitted 12.07.2022.

Научная статья
УДК 619:578.245:618.19—002:636.2
DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.3.82

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМЫ ПОЛ-АОЗ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ РЕКОМБИНАНТНЫХ ИНТЕРФЕРОНОВ ДЛЯ ТЕРАПИИ СУБКЛИНИЧЕСКОГО МАСТИТА У КОРОВ

Виталий Иванович Зимников✉, Лилия Валерьевна Ческидова, Татьяна Григорьевна Ермолова

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

Аннотация. В статье представлены результаты изучения динамики показателей системы ПОЛ-АОЗ при применении рекомбинантных интерферонов для терапии субклинического мастита у лактирующих коров. Для этого было сформировано три группы животных с субклиническим маститом. Коровам первой группы вводили внутримышечно биферон-Б трехкратно с интервалом 24 часа в дозе 10 мл, второй — аналогично биферон-Б и препарат рекомбинантного интерферона-λ (ИФН-λ), а третья группа служила отрицательным контролем. Установлено, что у выздоровевших животных, которым применяли рекомбинантные интерфероны, происходило снижение концентрации продуктов пероксидации липидов при активизации ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной защиты. Однако лечение, включающее трехкратное с 24-часовым интервалом внутримышечное ведение в дозе 10 мл препаратов биферон-Б и ИФН-λ, способствовало более выраженным изменениям. Так, в крови коров отмечали понижение концентрации МДА на 35,1 %, МСМ — на 35,4 %, ИЭИ — на 34,7 % и уровня NOx — на 33,3 %, при повышении содержания витамина А на 46,2 %, витамина Е — на 38,5 %, витамина С — на 21,7 %, активности каталазы — на 32,1 % и ГПО — на 36,8 %. Следовательно, применение препаратов рекомбинантных интерферонов может быть рекомендовано при терапии животных с воспалительными процессами в молочной железе для снижения свободнорадикальных реакций и активизации системы антиоксидантной защиты.

Ключевые слова: субклинический мастит, эндогенная интоксикация, антиоксидантная защита, интерферон-λ, биферон-Б

При свободнорадикальной патологии пероксидное окисление липидов (ПОЛ) является индуктором оксидативного стресса, но, несмотря на это, ПОЛ рассматривается как один из доминирующих метаболических процессов, обеспечивающих регуляцию функциональной деятельности физиологических систем организма, и служит основным источником энергии, необходимой для жизнедеятельности, а также показателем устойчивости метаболических реакций в организме [12, 20].

Ферментативные и неферментативные звенья системы антиоксидантной защиты (АОЗ) контролируют накопление и утилизацию продуктов свободнорадикального окисления. Система АОЗ поддерживает на оптимальном уровне процессы свободнорадикального окисления липидов, ограничивая содержание в организме продуктов ПОЛ и активных форм кислорода [8, 17].

Снижение функции системы антиоксидантной защиты у больных животных приводит к накоплению в организме токсических продуктов свободнорадикального окисления, которые негативно воздействуют на биосинтез белков, изменяют структурное и функциональное состояние биомембран, что приводит к ослаблению клеточного и гуморального иммунитета [11, 13].

Многие современные ученые считают, что в патогенезе воспалительных процессов в молочной железе принимают непосредственное участие свободнорадикальные реакции, при чрезмерном накоплении их продуктов в организме на фоне нарушений функционирования системы антиоксидантной защиты возникает окислительный стресс [2, 4, 21]. Поэтому с целью улучшения работы ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной защиты организма при терапии и про-

© Зимников В. И., Ческидова Л. В., Ермолова Т. Г., 2022

филактике воспаления молочной железы лактирующих коров необходимо применение препаратов, обладающих антиоксидантными свойствами и направленных на нейтрализацию продуктов ПОЛ [5, 14, 16].

Известно, что препараты рекомбинантных интерферонов способны оказывать антибактериальное, антиоксидантное и противовоспалительное действие, что может быть использовано в качестве альтернативы традиционного лечения мастита при разработке терапевтических схем и фармацевтических препаратов [1, 17]. В связи с этим, актуальной задачей является изучение изменений показателей системы ПОЛ-АОЗ при применении рекомбинантных интерферонов для терапии субклинического мастита у коров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проведены на 42 коровах голштинской породы больных субклиническим маститом, которые по принципу аналогов были разделены на три группы. Животные первой группы (n = 14) были подвергнуты лечению Бифероном-Б (базовый вариант), который вводили внутримышечно в дозе 10 мл трижды с 24-часовым интервалом. Второй группе (n = 14) коров дополнительно в эти же сроки внутримышечно в дозе 10 мл вводили препарат на основе рекомбинантного интерферона-λ (ИФН-λ). Животные третьей группы (n = 14) служили отрицательным контролем и им лечение не назначали.

Для выявления долей молочных желез с субклиническим маститом использовали экспресс-тест на мастит (Масттест), а также определяли количество соматических клеток (более 500 000 мл) в пробах молока с помощью прибора «Фоссоматик». От всех животных перед введением препаратов и на 7 день после окончания лечения брали кровь для спектрофотометрического исследования.

При оценке состояния ферментативного звена системы антиоксидантной защиты исследовали активность каталазы по способности пероксида водорода образовывать с молибдатом аммония стойкий окрашенный комплекс, а активность глутатионпероксидазы (ГПО) — по уменьшению количества восстановленного глутатиона (донора водорода) в среде инкубации при восстановлении гидроперекисей глутатионпероксидазой [3].

О состоянии неферментативного звена судили по содержанию в сыворотке крови витаминов А, Е и С. Определение витамина А основано на щелочном гидролизе и экстракции витамина из сыворотки крови и измерении до и после его разрушения ультрафиолетом; витамина Е — на определении ионов двухвалентного железа, образующихся при взаимодействии α-токоферола с хлорным железом (Fe^{3+}) в виде окрашенного комплекса Fe^{2+} с фенантролином, а витамина С — на восстановлении трехвалентного железа в двухвалентное с образованием с α, α'-дипиридилом окрашенного комплекса [3].

Метод определения стабильных метаболитов оксида азота (суммы NOx) основан на восстановлении NO_3^- до NO_2^- с использованием хлорида ванадия (III) и последующее определение образовавшегося нитрита с помощью реактива Грисса [3].

Концентрацию малонового диальдегида (МДА) в крови устанавливали по образованию окрашенного триметилового комплекса при реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой [3].

Молекулы средней массы (МСМ) — полипептиды низкой и средней массы определяли при осаждении крупномолекулярных частиц плазмы крови раствором ТХУ с регистрацией оптической плотности водного раствора супернатанта при 238, 254, 266 и 282 нм [3].

Индекс эндогенной интоксикации (ИЭИ) рассчитывали по спектральной характеристике супернатанта после освобождения плазмы крови от содержащихся в ней высокомолекулярных пептидов и белков с использованием 10 % раствора трихлоруксусной кислоты [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Установлено, что субклинический мастит у коров развивается на фоне усиления процессов перекисного окисления липидов, о чем свидетельствует высокая концентрация в крови больных животных показателей эндогенной интоксикации (табл. 1).

Причиной повышения продуктов пероксидации в организме считается как усиление генерации активных форм кислородных (АФК) метаболитов, так и недостаточная эффективность антиоксидантной защиты [19, 21]. Одни авторы считают, что микроорганизмы способны увеличивать концентрацию МДА и АФК в эпителиальных клетках молочной железы у коров, одновременно снижая их антиоксидантную способность, что вызывает повреждение клеток и способствует развитию клинического мастита [10]. Другие публикации свидетельствуют о том, что окислительный стресс является причиной развития воспаления в молочной железе, а его снижение может ослабить патологические реакции, что особенно важно при лечении мастита, для которого невозможно выделить патоген [7].

Таблица 1

Изменение показателей эндогенной интоксикации при лечении коров с субклиническим маститом препаратами рекомбинантных интерферонов

Показатели	До лечения	После курса лечения		Контроль
		биферон-Б	ИФН-λ + биферон-Б	
МДА, мкМ/л	2,96 ± 0,18	2,24 ± 0,14*	1,92 ± 0,12**	3,01 ± 0,23
МСМ, у. е.	2,12 ± 0,14	1,62 ± 0,12*	1,37 ± 0,11**	2,22 ± 0,14
ИЭИ, у. е.	49,5 ± 2,7	38,7 ± 2,5*	32,3 ± 2,4**	50,2 ± 3,3
NO_x, мкМ/л	59,1 ± 5,3	41,3 ± 3,3*	39,4 ± 3,8**	63,1 ± 3,9

* $P < 0,02$—$0,01$

** $P < 0,002$—$0,001$ — по отношению к показателям до лечения

Выздоровление коров после применения препарата биферон-Б сопровождается уменьшением окислительного стресса, что выражается в снижении концентрации малонового диальдегида — на 24,3 % ($P < 0,01$), молекул средней массы — на 23,6 % ($P < 0,02$) и индекса эндогенной интоксикации на 21,8 % ($P < 0,02$) по сравнению с больными животными.

При совместном использовании Биферона-Б и интерферона-λ у выздоровевших животных отмечено наиболее выраженное снижение концентрации продуктов пероксидации липидов по сравнению с больными коровами: уровня малонового диальдегида — на 35,1 % ($P < 0,001$), молекул средней массы — на 35,4 % ($P < 0,002$) и, как следствие, индекса эндогенной интоксикации — на 34,7 % ($P < 0,002$).

Кроме АФК в организме животных в качестве средства борьбы с микроорганизмами участвует система оксида азота [6]. В частности, многочисленными опытами доказано, что одноэлектронный нитроксидный радикал обладает широким спектром антимикробного действия [18].

Как правило, при субклиническом мастите регистрируют более высокие концентрации NO, чем у здоровых животных [6], что также было отмечено в наших исследованиях. При выздоровлении у животных первой и второй опытных групп зарегистрировано снижение содержания оксида азота на 30,1 % ($P < 0,02$) и на 33,3 % ($P < 0,01$) соответственно.

Некоторые ученые связывают высокий уровень маркеров окислительного стресса и оксида азота с повышенным показателем цитокинов, что требует изменение подходов к лечению мастита и применения лекарственных средств, корректирующих уровень провоспалительных цитокинов [9, 15].

Результаты изучения изменений показателей системы антиоксидантной защиты представлены в таблице 2.

Как следует из представленных в таблице 2 данных, у коров третьей группы отмечен низкий уровень активности ферментативного и неферментативного звеньев системы АОЗ, который практически не отличается от показателей животных до лечения. В то же время при применении Биферона-Б регистрировали повышение активности антиоксидантной защиты, о чем свидетельствует увеличение концентрации витамина А на 38,5 % ($P < 0,005$), витамина Е — на 26,4 % ($P < 0,05$) и витамина С — на 9,0 %, а также активности каталазы и глутатионпероксидазы — на 28,3 % ($P < 0,01$) и 23,5 % соответственно.

При совместном использовании Биферона-Б и интерферона-λ в крови у выздоровевших животных отмечено наибольшее усиление действия ферментативного и неферментативного звеньев системы антиоксидантной защиты, что обусловлено повышением содержания витамина А — на 46,2 % ($P < 0,001$), витамина Е — на 38,5 % ($P < 0,01$) и витамина С — на 21,7 % ($P < 0,05$), а также активности каталазы и глутатионпероксидазы на 32,1 % ($P < 0,005$) и 36,8 % ($P < 0,02$).

Следовательно, применение препаратов рекомбинантных интерферонов при лечении коров с субклиническим маститом способствует нормализации показателей системы антиоксидантной защиты, что может быть использовано при фармацевтической разработке препаратов для терапии животных с воспалительными процессами в молочной железе.

Таблица 2

Динамика показателей системы антиоксидантной защиты при лечении коров с субклиническим маститом препаратами рекомбинантных интерферонов

Показатели	До лечения	После курса лечения		Контроль
		биферон-Б	ИФН-λ + биферон-Б	
Витамин А, мкМ/л	1,3 ± 0,07	1,8 ± 0,11**	1,9 ± 0,07**	1,3 ± 0,09
Витамин Е, мкМ/л	14,8 ± 1,2	18,7 ± 1,1*	20,5 ± 1,3*	14,9 ± 1,4
Витамин С, мкМ/л	21,2 ± 1,9	23,1 ± 1,6	25,8 ± 1,4	21,2 ± 2,1
Каталаза, мкМ H_2O_2 / л·мин.	36,4 ± 2,1	46,7 ± 2,3*	48,1 ± 2,2**	36,7 ± 2,5
ГПО, мМ GSH / л·мин.	13,6 ± 1,2	16,8 ± 1,3	18,6 ± 1,2*	13,5 ± 1,3

* $P < 0,05$—0,01

** $P < 0,005$—0,001 — по отношению к показателям до лечения

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования по изучению динамики изменения показателей ПОЛ-АОЗ при использовании препаратов рекомбинантных интерферонов для терапии субклинического мастита у лактирующих коров свидетельствуют о снижении в организме выздоровевших животных процессов свободнорадикального окисления, а также активизации ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной защиты. В тоже время, комплексное применение Биферона-Б и рекомбинантного интерферона-λ способствовало уменьшению уровня эндогенной интоксикации и нормализации антиоксидантного статуса у коров.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Зимников В. И.* Оксидантный и антиоксидантный статус коров при лечении мастита с использованием препарата «АМСФ» / В. И. Зимников, Н. Т. Климов, О. Б. Павленко, Л. В. Ческидова, Т. Г. Ермолова // Ученые записки УО ВГАВМ. — 2021. — т. 57. — вып. 3. — С. 82—85. — doi: 10.52368/2078-0109-2021-57-3-82-85.

2. *Киреев И. В.* Применение антиоксидантных препаратов в комплексной профилактике и терапии маститов у коров / И. В. Киреев, В. А. Оробец, Т. С. Денисенко // Ветеринарный врач. — 2017. — № 6. — С. 20—26.

3. Методические положения по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма // М. И. Рецкий, С. В. Шабунин, Г. Н. Близнецова, Т. Е. Рогачева, Т. Г. Ермолова, О. Ю. Фоменко, Э. В. Братченко, В. Ю. Дубовцев, Н. Н. Каверин, О. И. Цебржинский. — Воронеж, ВНИВИПФИТ, 2010. — 70 с.

4. *Нежданов А. Г.* Патогенетическое и клиническое обоснование рациональных методов фармакопрофилактики послеродовых воспалительных заболеваний матки у молочных коров / А. Г. Нежданов, В. Н. Скориков, В. И. Михалев, В. А. Сафонов, К. А. Лободин // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. — 2019. — № 3. — С. 110—115.

5. *Ali I.* Nrf2 activation and NF-Kb & caspase/bax signaling inhibition by sodium butyrate alleviates LPS-induced cell injury in bovine mammary epithelial cells / I. Ali, C. Li, M. Kuang, A. U. Shah, M. Shafiq, M. A. Ahmad, D. Abdalmegeed, L. Li, G. Wang // Molecular immunology. — 2022. — v. 148. — p. 54—67. — doi: 10.1016/j.molimm.2022.05.121.

6. *Atakisi O.* Subclinical mastitis causes alterations in nitric oxide, total oxidant and antioxidant capacity in cow milk / O. Atakisi, H. Oral, E. Atakisi, O. Merhan, S. Metin Pancarci, A. Ozcan, S. Marasli, B. Polat, A. Colak, S. Kaya // Research in Veterinary Science. — 2010. — v. 89 (1). — p. 10—13. — doi: 10.1016/j.rvsc.2010.01.008.

7. *Bae H.* Oxidative stress-induced inflammatory responses and effects of N-acetylcysteine in bovine mammary alveolar cells / H. Bae, C. H. Jeong, W. N. Cheng, K. Hong, H. G. Seo, S. G. Han // Journal of Dairy Research. — 2017. — v. 84 (4). — p. 418—425. — doi:10.1017/S002202991700067X.

8. *Birben E.* Oxidative stress and antioxidant defense / E. Birben, U. M. Sahiner, C. Sackesen, S. Erzurum, O. Kalayci // The World Allergy Organization journal. — 2012. — v. 5 (1). — p. 9—19. — doi: 10.1097/WOX.0b013e3182439613.

9. *Chen Y.* Vitexin mitigates Staphylococcus aureus-induced mastitis via regulation of ROS/ER stress/NF-κB/MAPK pathway / Y. Chen, J. Yang, Z. Huang, B. Yin, T. Umar, C. Yang, X. Zhang, H. Jing, S. Guo, M. Guo,

G. Deng, C. Qiu // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. — 2022. — v. 2022. — p. 7977 433. — doi: 10.1155/2022/7977 433.

10. *Cheng J.* Klebsiella pneumoniae infection causes mitochondrial damage and dysfunction in bovine mammary epithelial cells / J. Cheng, J. Zhang, J. Yang, B. Yi, G. Liu, M. Zhou, J. P Kastelic, B. Han, J. Gao // Veterinary Research. — 2021. — v. 52 (1). — p. 17. — doi: 10.1186/s13567-021-00898-x.

11. *Dizdaroglu M.* Mechanisms of free radical-induced damage to DNA / M. Dizdaroglu, P. Jaruga // Free radical research. — 2012. — v. 46 (4). — p. 382—419. — doi: 10.3109/10 715 762.2011.653969.

12. *Hoffmann M. H.* The dual role of reactive oxygen species in autoimmune and inflammatory diseases: evidence from preclinical models / M. H. Hoffmann, H. R. Griffiths // Free radical biology and medicine. — 2018. — v. 125. — p. 62—71. — doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.016.

13. *Kienhöfer D.* Reactive oxygen homeostasis — the balance for preventing autoimmunity / D. Kienhöfer, S. Boeltz, M. H. Hoffmann // Lupus. — 2016. — v. 25 (8). — p. 943—954. — doi: 10.1177/0961 203 316 640 919.

14. *Kovačević Z.* Natural agents against bovine mastitis pathogens / Z. Kovačević, M. Radinović, I. Čabarkapa, N. Kladar, B. Božin // Antibiotics (Basel). — 2021. — v. 10 (2). — p. 205. — doi: 10.3390/antibiotics10020205.

15. *Leishangthem G. D.* Cell free mitochondrial DNA in serum and milk associated with bovine mastitis: a pilot study / G. D. Leishangthem, N. K. Singh, N. D. Singh, G. Filia, A. Singh // Veterinary Research Communications. — 2018. — v. 42 (4). — p. 275—282. — doi: 10.1007/s11259-018-9735-z.

16. *Li L.* Study on the regulation mechanism of lipopolysaccharide on oxidative stress and lipid metabolism of bovine mammary epithelial cells / L. Li, W. Tang, M. Zhao, B. Gong, M. Cao, J. Li // Physiological research. — 2021. — v. 70 (5). — p. 777—785. — doi: 10.33549/physiolres.934682.

17. *Rahal A.* Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay / A. Rahal, A. Kumar, V. Singh, B. Yadav, R. Tiwari, S. Chakraborty, K. Dhama // BioMed research international. — 2014. — p. 761 264. — doi: 10.1155/2014/761 264.

18. *Regev G.* Feasibility and preliminary safety of nitric oxide releasing solution as a treatment for bovine mastitis / G. Regev, J. Martins, M. P. Sheridan, J. Leemhuis, J. Thompson, C. Miller // Research in Veterinary Science. — 2018. — v. 118. — p. 247—253. — doi:10.1016/j.rvsc.2018.02.009.

19. *Shahid M.* Prototheca zopfii isolated from bovine mastitis induced oxidative stress and apoptosis in bovine mammary epithelial cells / M. Shahid, J. Gao, Y. Zhou, G. Liu, T. Ali, Y. Deng, N. Sabir, J. Su, B. Han // Oncotarget. — 2017. — v. 8 (19). — p. 31 938—31 947. — doi: 10.18632/oncotarget.16653.

20. *To E. E.* Spatial properties of reactive oxygen species govern pathogenspecific immune system responses / E. E. To, J. J. O'Leary, L. A. J. O'Neill, R. Vlahos, S. Bozinovski, C. J. H. Porter, R. D. Brooks, D. A. Brooks, S. Selemidis // Antioxidants and redox signaling. — 2020. — v. 32 (13). — p. 982—992. — doi: 10.1089/ars.2020.8027.

21. *Wang D.* Association between serum selenium level and subclinical mastitis in dairy cattle / D. Wang, D. Jia, R. He, S. Lian, J. Wang, R. Wu // Biological Trace Element Research. — 2021. — v. 199 (4). — p. 1389—1396. — doi: 10.1007/s12011-020-02 261-1.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

В. И. Зимников — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник;
Л. В. Ческидова — доктор ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник;
Т. Г. Ермолова — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник.

Статья поступила в редакцию 04.07.2022 г.

Original article
UDC 619:578.245:618.19—002:636.2

DYNAMICS OF THE LPO-AOD SYSTEM INDICATORS WHEN USING RECOMBINANT INTERFERONS FOR THE THERAPY OF SUBCLINICAL MASTITIS IN COWS

Vitaliy Ivanovich Zimnikov✉, Liliya Valeryevna Cheskidova, Tatyana Grigoryevna Ermolova

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

Abstract. The article presents the results of studying the dynamics of the LPO-AOD system indicators when using recombinant interferons for the treatment of subclinical mastitis in lactating cows. Three groups of animals with subclinical mastitis were formed. The cows of the first group were injected intramuscularly with biferon-B at a dose of 10 ml three times with an interval of 24 hours, the cows of the second group were similarly injected with biferon-B and the drug of recombinant interferon-λ (IFN-λ), and the cows of the third group served as the negative control. It was found that in the recovered animals treated with recombinant interferons, there was a decrease in the concentration of lipid peroxidation products with activation of the enzymatic and non-enzymatic components of antioxidant protection. However, treatment, including intramuscular administration of biferon-B and IFN-λ at a dose of 10 ml three times with a 24-hour interval, contributed to more pronounced changes. Thus, in the blood of cows, a decrease in the concentration of MDA by 35.1 %, MWM — by 35.4 %, IEI — by 34.7 % and NOx — by 33.3 % was noted, with an increase in the content of vitamin A by 46.2 %, vitamin E — by 38.5 %, vitamin C — by 21.7 %, catalase activity — by 32.1 % and GPO — by 36.8 %. Therefore, the use of recombinant interferon drugs can be recommended in the treatment of animals with inflammatory processes in the mammary gland to reduce free radical reactions and activate the antioxidant defense system.
Keywords: subclinical mastitis, endogenous intoxication, antioxidant protection, interferon-λ, biferon-B

In case of a free radical pathology, lipid peroxidation (LPO) is an inducer of oxidative stress, but despite this LPO is considered as one of the dominant metabolic processes that regulate the functional activity of physiological systems of the body and serves as the main source of energy necessary for life, as well as a stability indicator of metabolic reactions in the body [12, 20].

Enzymatic and non-enzymatic links of the antioxidant defense system (AOD) control the accumulation and utilization of free radical oxidation products. The AOD system maintains the processes of free radical lipid oxidation at an optimal level, limiting the content of lipid peroxidation products and reactive oxygen species in the body [8, 17].

A decrease in the function of the antioxidant defense system in sick animals leads to the accumulation of toxic products of free radical oxidation in the body, which adversely affect protein biosynthesis, change the structural and functional state of biomembranes that leads to a weakening of cellular and humoral immunity [11, 13].

Many modern scientists believe that free radical reactions are directly involved in the pathogenesis of inflammatory processes in the mammary gland, with excessive accumulation of their products in the body against the background of impaired functioning of the antioxidant defense system, oxidative stress occurs [2, 4, 21]. Therefore, in order to improve the work of the enzymatic and non-enzymatic components of the antioxidant defense of the body in the treatment and prevention of the mammary gland inflammation in lactating cows, it is necessary to use drugs that have antioxidant properties and are aimed at neutralizing LPO products [5, 14, 16].

It is known that recombinant interferon drugs are capable of exerting antibacterial, antioxidant and anti-inflammatory effects, which can be used as an alternative to the traditional treatment of mastitis in the development of therapeutic regimens and pharmaceutical drugs [1, 17]. In this regard, an urgent task is to study changes in the indicators of the LPO-AOD system when using recombinant interferons for the treatment of subclinical mastitis in cows.

© Zimnikov V. I., Cheskidova L. V., Ermolova T. G., 2022

MATERIAL AND METHODS

The studies were carried out on 42 Holstein cows with subclinical mastitis, which were divided into three groups according to the principle of analogues. The animals of the first group (n = 14) were treated with biferon-B (basic variant), which was administered intramuscularly at a dose of 10 ml three times with a 24-hour interval. The cows of the second group (n = 14) were additionally intramuscularly injected at a dose of 10 ml at the same time, based on recombinant interferon-λ (IFN-λ). The animals of the third group (n = 14) served as the negative control and were not treated.

To identify the proportions of mammary glands with subclinical mastitis, an express test for mastitis (Masttest) was used, and the number of somatic cells (more than 500 000/ml) in milk samples was determined using the Fossomatic device. From all animals before the administration of drugs and on day 7 after the end of treatment, blood was taken for spectrophotometric study.

When assessing the state of the enzymatic link of the antioxidant defense system, we studied the activity of catalase by the ability of hydrogen peroxide to form a stable colored complex with ammonium molybdate, and the activity of glutathione peroxidase (GPO) was studied by reducing the amount of reduced glutathione (hydrogen donor) in the incubation medium during the reduction of hydroperoxides by glutathione peroxidase [3].

The state of the non-enzymatic link was judged by the serum content of vitamins A, E and C. The determination of vitamin A is based on alkaline hydrolysis and extraction of the vitamin from the serum and measurement before and after its destruction by ultraviolet light; vitamin E — on the determination of ferrous ions formed by the interaction of α-tocopherol with ferric chloride (Fe^{3+}) in the form of a colored complex Fe^{2+} with phenanthroline, and vitamin C — on the reduction of ferric iron to ferrous with the formation of a colored complex with α, α'-dipyridyl [3].

The method for determining stable nitric oxide metabolites (total NOx) is based on the reduction of NO^{3-} to NO^{2-} using vanadium (III) chloride and the subsequent determination of the resulting nitrite using the Griess reagent [3].

The blood concentration of malondialdehyde (MDA) was determined by the formation of a colored trimethyl complex upon reaction with 2-thiobarbituric acid [3].

Medium weight molecules (MWMs) — polypeptides of low and medium weight were determined by sedimentation of large molecular particles of blood plasma with a solution of TCA with registration of the optical density of an aqueous solution of the supernatant at 238, 254, 266 and 282 nm [3].

The index of endogenous intoxication (IEI) was calculated from the spectral characteristics of the supernatant after the release of blood plasma from high molecular weight peptides and proteins contained in it using a 10 % solution of trichloroacetic acid [3].

STUDY RESULTS

It has been established that subclinical mastitis in cows develops against the background of increased lipid peroxidation processes, as evidenced by the high concentration of indicators of endogenous intoxication in the blood of sick animals (Table 1).

Table 1

Changes in endogenous intoxication indicators in the treatment of cows with subclinical mastitis with recombinant interferons

Indicators	Before treatment	After a course of treatment		Control
		biferon-B	IFN-λ + biferon-B	
MDA, μM/L	2.96 ± 0.18	2.24 ± 0.14*	1.92 ± 0.12**	3.01 ± 0.23
MWM, c. u.	2.12 ± 0.14	1.62 ± 0.12*	1.37 ± 0.11**	2.22 ± 0.14
IEI, c. u.	49.5 ± 2.7	38.7 ± 2.5*	32.3 ± 2.4**	50.2 ± 3.3
NO_x, μM/L	59.1 ± 5.3	41.3 ± 3.3*	39.4 ± 3.8**	63.1 ± 3.9

* $P < 0.02$—0.01

** $P < 0.002$—0.001 — relative to the indicators before treatment

The reason for the increase in peroxidation products in the body is considered to be both an increase in the generation of reactive oxygen species (ROS) metabolites and insufficient efficacy of antioxidant protection [19, 21]. Some authors believe that microorganisms are able to increase the concentration of MDA and ROS in epithelial cells of the mammary gland in cows, while simultaneously reducing their antioxidant capacity that causes cell damage and contributes to the development of clinical mastitis [10]. Other publications indicate that oxidative stress is the cause of the development of inflammation in the mammary gland and its reduction can weaken pathological reactions that is especially important in the treatment of mastitis, for which it is impossible to isolate a pathogen [7].

The recovery of cows after the use of biferon-B is accompanied by a decrease in oxidative stress, which is expressed in a decrease in the concentration of malondialdehyde — by 24.3 % ($P < 0.01$), medium weight molecules — by 23.6 % ($P < 0.02$) and index of endogenous intoxication — by 21.8 % ($P < 0.02$), compared to sick animals.

With the combined use of biferon-B and interferon-λ, recovered animals showed the most pronounced decrease in the concentration of lipid peroxidation products compared to sick cows: the level of malondialdehyde — by 35.1 % ($P < 0.001$), medium weight molecules — by 35.4 % ($P < 0.002$) and as a result the index of endogenous intoxication — by 34.7 % ($P < 0.002$).

In addition to ROS, the nitric oxide system is involved in the organism of animals as a means of combating microorganisms [6]. In particular, numerous experiments have shown that the one-electron nitroxide radical has a wide spectrum of antimicrobial activity [18].

As a rule, higher NO concentrations are recorded in case of subclinical mastitis than in healthy animals [6] that was also noted in our studies. During the recovery in the animals of the first and second experimental groups, there was registered a decrease in the content of nitric oxide by 30.1 % ($P < 0.02$) and 33.3 % ($P < 0.01$), respectively.

Some scientists associate high levels of oxidative stress markers and nitric oxide with an increased level of cytokines that requires a change in approaches to the treatment of mastitis and the use of drugs that correct the level of pro-inflammatory cytokines [9, 15].

The results of studying changes in the indicators of the antioxidant defense system are presented in Table 2.

Table 2

Dynamics of the antioxidant defense system indicators in the treatment of cows with subclinical mastitis with recombinant interferons

Indicators	Before treatment	After a course of treatment		Control
		biferon-B	IFN-λ + biferon-B	
Vitamin A, μM/L	1.3 ± 0.07	1.8 ± 0.11**	1.9 ± 0.07**	1.3 ± 0.09
Vitamin E, μM/L	14.8 ± 1.2	18.7 ± 1.1*	20.5 ± 1.3*	14.9 ± 1.4
Vitamin C, μM/L	21.2 ± 1.9	23.1 ± 1.6	25.8 ± 1.4	21.2 ± 2.1
Catalase, μM H_2O_2 / L·min.	36.4 ± 2.1	46.7 ± 2.3*	48.1 ± 2.2**	36.7 ± 2.5
GPO, mM GSH / L·min.	13.6 ± 1.2	16.8 ± 1.3	18.6 ± 1.2*	13.5 ± 1.3

* $P < 0.05$—0.01
** $P < 0.005$—0.001 — relative to the indicators before treatment

As follows from the data presented in Table 2, the cows of the third group have shown a low level of activity of the enzymatic and non-enzymatic links of the AOD system that practically does not differ from the indicators of animals before treatment.

At the same time, when using biferon-B, an increase in the activity of antioxidant protection was recorded, as evidenced by an increase in the concentration of vitamin A by 38.5 % ($P < 0.005$), vitamin E — by 26.4 % ($P < 0.05$) and vitamin C — by 9.0 %, as

well as the activities of catalase and glutathione peroxidase — by 28.3 % ($P < 0.01$) and 23.5 %, respectively.

With the combined use of biferon-B and interferon-λ in the blood of recovered animals, the greatest increase in the action of the enzymatic and non-enzymatic links of the antioxidant defense system was noted that was due to an increase in the content of vitamin A — by 46.2 % ($P < 0.001$), vitamin E — by 38.5 % ($P < 0.01$) and vitamin C — by 21.7 % ($P < 0.05$), as well as catalase and glutathione peroxidase activity — by 32.1 % ($P < 0.005$) and 36.8 % ($P < 0.02$).

Therefore, the use of recombinant interferon drugs in the treatment of cows with subclinical mastitis contributes to the normalization of the indicators of the antioxidant defense system that can be used in the pharmaceutical design of drugs for the treatment of animals with inflammatory processes in the mammary gland.

CONCLUSION

The conducted studies on the dynamics of changes in the LPO-AOD indicators when using recombinant interferon drugs for the treatment of subclinical mastitis in lactating cows indicate a decrease in free radical oxidation processes in the body of recovered animals, as well as activation of the enzymatic and non-enzymatic components of antioxidant protection. At the same time, the complex use of biferon-B and recombinant interferon-λ contributed to a decrease in the level of endogenous intoxication and the normalization of the antioxidant status in cows.

REFERENCES

1. *Zimnikov V. I.* Oxidant and antioxidant status of cows in the treatment of mastitis using the drug «AMSF» / V. I. Zimnikov, N. T. Klimov, O. B. Pavlenko, L. V. Cheskidova, T. G. Ermolova // Uchenye zapiski UO VGAVM (Transactions of EE VSAVM). — 2021. — v. 57. — issue. 3. — P. 82—85. — doi: 10.52368/2078-0109-2021-57-3-82-85.

2. *Kireev I. V.* Use of antioxidant drugs in the complex prevention and treatment of mastitis in cows / I. V. Kireev, V. A. Orobets, T. S. Denisenko // Veterinarnyy vrach (Veterinarian). — 2017. — No. 6. — P. 20—26.

3. Methodical provisions for studying the processes of free radical oxidation and the system of antioxidant defense of the organism // M. I. Retskiy, S. V. Shabunin, G. N. Bliznetsova, T. E. Rogacheva, T. G. Ermolova, O. Yu. Fomenko, E. V. Bratchenko, V. Yu. Dubovtsev, N. N. Kaverin, O. I. Tsebrzhinskiy. — Voronezh, VNIVIPFIT (ARVRIPP&T), 2010. — 70 p.

4. *Nezhdanov A. G.* Pathogenetic and clinical substantiation of rational methods of pharmacoprophylaxis of uterine postpartum inflammatory diseases in dairy cows / A. G. Nezhdanov, V. N. Skorikov, V. I. Mikhalev, V. A. Safonov, K. A. Lobodin // Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii (Normative-legal regulatory issues in veterinary medicine). — 2019. — No. 3. — P. 110—115.

5. *Ali I.* Nrf2 activation and NF-Kb & caspase/bax signaling inhibition by sodium butyrate alleviates LPS-induced cell injury in bovine mammary epithelial cells / I. Ali, C. Li, M. Kuang, A. U. Shah, M. Shafiq, M. A. Ahmad, D. Abdalmegeed, L. Li, G. Wang // Molecular immunology. — 2022. — v. 148. — p. 54—67. — doi: 10.1016/j.molimm.2022.05.121.

6. *Atakisi O.* Subclinical mastitis causes alterations in nitric oxide, total oxidant and antioxidant capacity in cow milk / O. Atakisi, H. Oral, E. Atakisi, O. Merhan, S. Metin Pancarci, A. Ozcan, S. Marasli, B. Polat, A. Colak, S. Kaya // Research in Veterinary Science. — 2010. — v. 89 (1). — p. 10—13. — doi: 10.1016/j.rvsc.2010.01.008.

7. *Bae H.* Oxidative stress-induced inflammatory responses and effects of N-acetylcysteine in bovine mammary alveolar cells / H. Bae, C. H. Jeong, W. N. Cheng, K. Hong, H. G. Seo, S. G. Han // Journal of Dairy Research. — 2017. — v. 84 (4). — p. 418—425. — doi:10.1017/S002202991700067X.

8. *Birben E.* Oxidative stress and antioxidant defense / E. Birben, U. M. Sahiner, C. Sackesen, S. Erzurum, O. Kalayci // The World Allergy Organization journal. — 2012. — v. 5 (1). — p. 9—19. — doi: 10.1097/WOX.0b013e3182439613.

9. *Chen Y.* Vitexin mitigates Staphylococcus aureus-induced mastitis via regulation of ROS/ER stress/NF-κB/MAPK pathway / Y. Chen, J. Yang, Z. Huang, B. Yin, T. Umar, C. Yang, X. Zhang, H. Jing, S. Guo, M. Guo, G. Deng, C. Qiu // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. — 2022. — v. 2022. — p. 7977 433. — doi: 10.1155/2022/7977 433.

10. *Cheng J.* Klebsiella pneumoniae infection causes mitochondrial damage and dysfunction in bovine mammary epithelial cells / J. Cheng, J. Zhang, J. Yang, B. Yi, G. Liu, M. Zhou, J. P Kastelic, B. Han, J. Gao // Veterinary Research. — 2021. — v. 52 (1). — p. 17. — doi: 10.1186/s13567-021-00898-x.

11. *Dizdaroglu M.* Mechanisms of free radical-induced damage to DNA / M. Dizdaroglu, P. Jaruga // Free radical research. — 2012. — v. 46 (4). — p. 382—419. — doi: 10.3109/10715762.2011.653969.

12. *Hoffmann M. H.* The dual role of reactive oxygen species in autoimmune and inflammatory diseases: evidence from preclinical models / M. H. Hoffmann, H. R. Griffiths // Free radical biology and medicine. — 2018. — v. 125. — p. 62—71. — doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.016.

13. *Kienhöfer D.* Reactive oxygen homeostasis — the balance for preventing autoimmunity / D. Kienhöfer, S. Boeltz, M. H. Hoffmann // Lupus. — 2016. — v. 25 (8). — p. 943—954. — doi: 10.1177/0961203316640919.

14. *Kovačević Z.* Natural agents against bovine mastitis pathogens / Z. Kovačević, M. Radinović, I. Čabarkapa,

N. Kladar, B. Božin // Antibiotics (Basel). — 2021. — v. 10 (2). — p. 205. — doi: 10.3390/antibiotics10020205.

15. *Leishangthem G. D.* Cell free mitochondrial DNA in serum and milk associated with bovine mastitis: a pilot study / G. D. Leishangthem, N. K. Singh, N. D. Singh, G. Filia, A. Singh // Veterinary Research Communications. — 2018. — v. 42 (4). — p. 275—282. — doi: 10.1007/s11259—018—9735-z.

16. *Li L.* Study on the regulation mechanism of lipopolysaccharide on oxidative stress and lipid metabolism of bovine mammary epithelial cells / L. Li, W. Tang, M. Zhao, B. Gong, M. Cao, J. Li // Physiological research. — 2021. — v. 70 (5). — p. 777—785. — doi: 10.33549/physiolres.934682.

17. *Rahal A.* Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay / A. Rahal, A. Kumar, V. Singh, B. Yadav, R. Tiwari, S. Chakraborty, K. Dhama // BioMed research international. — 2014. — p. 761 264. — doi: 10.1155/2014/761 264.

18. *Regev G.* Feasibility and preliminary safety of nitric oxide releasing solution as a treatment for bovine mastitis / G. Regev, J. Martins, M. P. Sheridan, J. Leemhuis, J. Thompson, C. Miller // Research in Veterinary Science. — 2018. — v. 118. — p. 247—253. — doi:10.1016/j.rvsc.2018.02.009.

19. *Shahid M.* Prototheca zopfii isolated from bovine mastitis induced oxidative stress and apoptosis in bovine mammary epithelial cells / M. Shahid, J. Gao, Y. Zhou, G. Liu, T. Ali, Y. Deng, N. Sabir, J. Su, B. Han // Oncotarget. — 2017. — v. 8 (19). — p. 31 938—31 947. — doi: 10.18632/oncotarget.16653.

20. *To E. E.* Spatial properties of reactive oxygen species govern pathogenspecific immune system responses / E. E. To, J. J. O'Leary, L. A. J. O'Neill, R. Vlahos, S. Bozinovski, C. J. H. Porter, R. D. Brooks, D. A. Brooks, S. Selemidis // Antioxidants and redox signaling. — 2020. — v. 32 (13). — p. 982—992. — doi: 10.1089/ars.2020.8027.

21. *Wang D.* Association between serum selenium level and subclinical mastitis in dairy cattle / D. Wang, D. Jia, R. He, S. Lian, J. Wang, R. Wu // Biological Trace Element Research. — 2021. — v. 199 (4). — p. 1389—1396. — doi: 10.1007/s12011-020-02261-1.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

V. I. Zimnikov — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Scientific Associate;
L. V. Cheskidova — Doctor of Veterinary Sciences, Principal Scientific Associate;
T. G. Ermolova — Candidate of Biological Sciences, Senior Scientific Associate.

The article was submitted 04.07.2022.

Научная статья
УДК 619:615.779.9
DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.3.92

УТЕРОТОНИЗИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОПРАНОЛОЛА ГИДРОХЛОРИДА В СОСТАВЕ КОМПЛЕКСНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ТЕРАПИИ ПОСЛЕРОДОВЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У СВИНОМАТОК

Андрей Викторович Филатов[*], Василий Петрович Хлопицкий[**]✉, Александр Витальевич Минин[***]

[*]*Вятский государственный агротехнологический университет, Киров, Россия*
[**]*Мосагроген, Москва, Россия, xvp-vet@mail.ru*✉
[***]*Восточный, Ижевск, Удмуртия, Россия*

Аннотация. Изучена сократительная деятельность матки и особенности ее реакции на комплексные препараты, содержащие в своем составе пропранолол гидрохлорид. Проведена оценка терапевтической эффективности препаратов при разных способах их введения. Установлено, что внутримышечное введение Метрамага®-15 и внутриматочное — Эндометрамага-Био®, активизирует сократительную функцию миометрия матки в первый час после применения и пролонгирует ее на период более шести часов. Показано, что комплексные препараты проявляют высокую терапевтическую эффективность при послеродовом эндометрите и синдроме метрит-мастит-агалактия. При клиническом выздоровлении регистрируется восстановление лактогенеза у свиноматок, что подтверждается нормализацией роста и развитием поросят, а также высокой их сохранностью. В после отъемный период у маточного поголовья наблюдается короткий период восстановления половой цикличности при высокой эффективности искусственного осеменения.

Ключевые слова: пропранолол, послеродовые болезни, сократительная активность матки, терапевтическая эффективность, воспроизводство

Развитие промышленного свиноводства во многом зависит от состояния репродуктивного здоровья маточного поголовья. Регистрирующиеся патологии приводят к значительному экономическому ущербу, включающему снижение продуктивности, увеличение ветеринарных затрат и преждевременную выбраковку животных. Наиболее частой формой проявления репродуктивной патологии является развитие в ранний послеродовый период воспалительного процесса в матке и молочной железе у свиноматок [5, 6, 8, 9]. Этиопатогенез послеродовых воспалительных болезней матки и молочной железы предусматривает организацию лечебно-профилактических мероприятий с применением комплексных лекарственных препаратов, обладающих антимикробным, противовоспалительным, иммуностимулирующим и утеротоническим действиями.

В клинической практике ветеринарного акушерства немаловажное значение отводится утеротоникам применяемым как отдельно, так и в составе комплексных лекарственных средств. Широкое практическое применение в свиноводстве получил пропранолол гидрохлорид (анаприлин), являющийся средством ß-адреноблокаторного действия и обладающий способностью вызывать сократительную активность миометрия при парентеральном введении у разных видов животных [2—4]. Однако несмотря на широкое применение пропранолола в животноводстве, отсутствуют научно-практические доказательства о влиянии пропранолола гидрохлорида на воспаленную матку свиноматок при системном и локальном его применении. Эмпирическое использование ß-адреноблокатора в практике животноводства представляет неоднозначную эффективность. В этой связи изучение действия

© Филатов А. В., Хлопицкий В. П., Минин А. В., 2022

пропранолола гидрохлорида в составе комплексных препаратов при внутримышечном и внутриматочном введении на моторику матки, а также терапевтической эффективности при послеродовом эндометрите и синдроме метрит-мастит-агалактия у свиноматок приобретает особую актуальность.

Цель исследований –изучить сократительную деятельность матки и особенности ее реакции на комплексные лекарственные препараты серии Эндометрамаг® и Метрамаг®-15, содержащие пропранолол гидрохлорид, при разных способах их введения, а также терапевтическую эффективность при воспалительных заболеваниях матки и молочной железы у свиноматок.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Клинико-экспериментальные исследования проводили на племенной ферме свиноводческого комплекса промышленного типа на свиноматках породы крупная белая. Система содержания животных — безвыгульная, при размещении их в производственных помещениях с использованием технологического оборудования Big Dutchman. Рацион лактирующих свиноматок включал полнорационный комбикорм СК-2.

Сократительную функцию матки у свиноматок изучали методом внутренней гистерографии с использованием прибора «Гистерограф» [1]. Запись гистерограмм проводили у 10 свиноматок, имеющих клинические признаки послеродового гнойно-катарального эндометрита, которым внутримышечно и внутриматочно вводили комплексные препараты Метрамаг®-15 и Эндометрамаг-Био®, в составе которых содержится пропранолол гидрохлорид. При анализе гистерограмм определяли частоту сокращений за 30 минут, их амплитуду и продолжительность. По их результатам рассчитывали индекс контракции. Изучение терапевтической эффективности Метрамаг®-15, Эндометрамаг-Т®, Эндометрамаг-К® и Эндометрамаг-Био® проводили на свиноматках, больных послеродовом гнойно-катаральном эндометритом и симптомокомплексом метрит-мастит-агалактия. Метрамаг®-15 животным с признаками послеродовых заболеваний внутримышечно инъецировали в дозе 10 мл с интервалом 48 часов. Препараты серии Эндометрамаг® инстиллировали внутриматочно в дозе 75,0 мл на животное с 24 часовым интервалом. Результативность лечебных мероприятий оценивали по количеству выздоровевших животных, кратности назначения препарата, интенсивности развития поросят и их сохранности, восстановлению половой цикличности у свиноматок после отъема приплода и оплодотворяемости самок в первый половой цикл.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Анализ полученных гистерограмм показал, что использование в составе комплексных препаратов пропранолола при разных способах их введения активизирует сократительную способность миометрия матки свиней с клиническими признаками воспаления эндометрия (табл. 1). Исходный уровень сократительной активности матки характеризовался низким контракционным индексом 85,13—98,09 ед., что свидетельствует о выраженной ее гипотонии у свиноматок. Вероятно, это связано с внутренним гормональным фоном у маточного поголовья свиней в ранний послеродовой период, который характеризуется высоким уровнем прогестерона и низким — эстрогенных гормонов из-за слабой активности фолликулогенеза в яичниках. На гистерограммах, снятых у животных регистрируются частые, непродолжительные сокращения с очень низкой амплитудой, что затрудняет эвакуацию содержимого из полости матки, играя тем самым существенную роль в осложнении патологического процесса при развитии и течении послеродового эндометрита и синдрома метрит-мастит-агалактия.

Таблица 1

Динамика сократительной активности матки у свиноматок с послеродовым эндометритом при воздействии препаратов, содержащих пропранолол гидрохлорид

Исследуемый показатель	Путь введения	Исходное значение	Временной период послевведения, мин.		
			60	180	360
1	2	3	4	5	6
Частота сокращений / 30 мин.	Внутримышечно	5,80 ± 0,20	4,60 ± 0,60	5,40 ± 0,60	5,80 ± 0,92
	Внутриматочно	6,67 ± 0,67	5,00 ± 1,15	5,33 ± 0,67	5,33 ± 0,33

Окончание табл. 1

1	2	3	4	5	6
Амплитуда сокращений, мм. рт.ст	Внутримышечно	6,21 ± 0,77	13,25 ± 1,16***	12,97 ± 1,20**	9,22 ± 1,02*; 0
	Внутриматочно	6,04 ± 0,58	10,43 ± 2,52	12,19 ± 2,09*	9,38 ± 1,42
Продолжительность сокращений, мин.	Внутримышечно	2,80 ± 0,26	4,57 ± 0,67*	3,86 ± 0,54	3,23 ± 0,29
	Внутриматочно	2,02 ± 0,18	3,81 ± 0,64	3,45 ± 0,15**	2,87 ± 0,18*
Контракционный индекс, ед.	Внутримышечно	98,09 ± 1,96	262,10 ± 40,08**	259,29 ± 30,96***	158,41 ± 6,90***;°
	Внутриматочно	85,13 ± 22,69	189,42 ± 63,27	226,08 ± 57,90	138,80 ± 7,66

* $P < 0,05$
** $P < 0,01$
*** $P < 0,001$ — по отношению к исходным значениям
° $P < 0,05$ — по отношению к предыдущему уровню

Через 60 минут после введения разными способами комплексных препаратов с утеротоническим действием наблюдали идентичные изменения показателей. На гистерограммах, снятых у свиноматок, больных послеродовым эндометритом, регистрируются сокращения с высокой амплитудой и продолжительностью, что свидетельствует о восстановлении возбудимости гладкомышечных структур миометрия и умеренной активизации его сократительной способности. Так, при внутримышечном введении препарата произошло снижение частоты сокращений гладких мышечных волокон на 20,7 %, а при внутриматочном — на 25,0 %. На этом фоне, при парентеральном введении амплитуда и продолжительность сокращения миометрия увеличилась, соответственно, в 2,1 раза ($p < 0,01$) и в 1,6 раза ($p < 0,05$), а при внутриматочной инстилляции — в 1,7 раза и в 1,4 раза, соответственно. Контракционный индекс за этот временной промежуток увеличился в 2,7 раза ($p < 0,01$) и в 2,2 раза.

Через 180 минут после начала эксперимента сократительная активность матки при внутримышечном введении остается высокой на прежнем уровне, а при внутриматочном — продолжает расти. Так, при парентеральном инъецировании отмечается незначительное повышение частоты сокращений при снижении их амплитуды и продолжительности, что обеспечивает идентичные значения уровня контракционного индекса на уровне 259,29 ± 30,96 ед. Анализ показателей активности маточных структур через исследуемый промежуток времени по отношению к исходным значениям показал увеличение уровня амплитуды сокращений в 2,09 раза ($P < 0,01$), продолжительности — в 1,38 раза и индекс контракции — в 2,64 раза ($P < 0,001$). В тоже время при локальном введении отмечали повышение частоты сокращений, амплитуды и контракционного индекса на 6,60 %, 16,87 % и 19,35 %, к предыдущему сроку исследования. Через 180 минут от момента начала регистрации сократительной активности после введения лекарственного средства в полость матки отмечали дальнейший рост амплитуды сокращений в 2,02 раза ($P < 0,05$) и их продолжительности в 1,71 раза ($P < 0,01$). Контракционный индекс на этом фоне увеличился в 2,65 раза.

По истечению 360 минут на фоне разных способов применения лекарственных средств, содержащих пропранолол гидрохлорид, отмечали ослабление моторики маточных структур по отношению к промежуточному сроку исследования. При парентеральном введении регистрировали снижение амплитуды сокращений на 28,91 % ($P < 0,05$), их продолжительности — на 16,32 % и контракционного индекса — на 38,90 % ($P < 0,05$) а при внутриматочном — на 23,25 %, 16,81 % и 38,61 %, соответственно. Однако в исследуемый промежуток времени после внутримышечного введения значения показателейк исходному уровню были выше по амплитуде сокращений на 48,47 % ($P < 0,05$), их продолжительности на 15,36 % и контракционному индексу на 61,49 % ($P < 0,001$), а после внутриматочной инстилляции в 1,55, 1,42 ($P < 0,05$) и 1,63 раза, соответственно.

Следовательно, парентеральное и внутриматочное введение лекарственных средств, содержащих средство β — блокаторного действия, активи-

зирует сократительную функцию матки в первый час после применения и пролонгирует ее на период более шести часов. Полученные результаты согласуются с данными Филина [7], который выявил, что при парентеральном введении препарата с действующим веществом пропранолол коровам, больным послеродовым эндометритом, сократительная активность матки выше в 2,5—3,8 раза в течение 6—12 часов. Поэтому в клинической практике необходимо учитывать продолжительность утеротонического действия пропранолола при лечении свиноматок с клиническими признаками эндометрита.

Помимо установленного утеротонического действия и актуальности пропранолола при терапии послеродовых заболеваний неспецифического воспалительного характера, подтверждена высокая терапевтическая эффективность комплексных лекарственных препаратов при послеродовом эндометрите и синдроме метрит-мастит-агалактия у свиноматок (табл. 2 и 3).

Таблица 2

Эффективность комплексных лекарственных средств при лечении свиноматок, больных послеродовым эндометритом

Показатель	Препараты			
	Метрамаг®-15	Эндометрамаг-Т®	Эндометрамаг-К®	Эндометрамаг-Био®
Количество животных в группе, голов	20	20	17	20
Количество выздоровевших животных, гол./%	20 /100	20 /100	17 / 100	20 / 100
Кратность введения препарата, раз	2,5 ± 0,11	1,95 ± 0,09	1,71 ± 0,11	1,95 ± 0,11
Количество живых поросят при рождении, гол	11,14 ± 0,37	10,95 ± 0,46	11,00 ± 0,42	11,10 ± 0,47
Количество поросят к отъему, гол	10,25 ± 0,29	10,35 ± 0,45	10,29 ± 0,24	10,45 ± 0,38
Сохранность к отъему, %	92,01	94,52	93,55	94,14
Молочность, кг	56,61 ± 1,97	65,85 ± 3,03	64,82 ± 2,69	65,55 ± 2,94
Масса поросят при рождении, кг	1,31 ± 0,02	1,35 ± 0,03	1,48 ± 0,03	1,48 ± 0,03
Масса поросят к отъему, кг	6,83 ± 0,31	7,87 ± 0,18	8,03 ± 0,29	7,66 ± 0,24
Масса гнезда, кг	70,0 ± 4,33	81,30 ± 3,72	82,35 ± 2,72	79,90 ± 3,60
Осталось под наблюдением свиноматок, гол	17	17	14	17
Проявило половую цикличность, гол. /%	17 / 100	17/100	14 / 100	16 / 94,12
Проявление признаков половой охоты, сут.	4,50 ± 0,13	4,51 ± 0,12	4,56 ± 0,16	4,50 ± 0,16
Оплодотворилось после 1-го осеменения, гол. /%	16 / 94,1	15/88,24	12 / 85,71	16 / 100

При лечении свиноматок, больных послеродовым эндометритом, препаратами серии Эндометрамаг® и Метрамаг®-15 регистрировали клиническое выздоровление у всех животных. Для достижения терапевтического эффекта Метрамага®-15 требовалось 2,5 инъекции, а препаратами серии Эндометрамаг® — 1,71—1,95 внутриматочных введений. Быстрое снижение воспалительной реакции обуславливало сохранение у маточного поголовья лактогенеза, что подтверждается результатами высокой молочности свиноматок, скоростью прироста массы тела и сохранностью поросят в лактационный период. Внутримышечное и внутриматочное введение лекарственных средств наряду с высокой клинической эффективностью обеспечивает сохранение воспроизводительной способности животных. Восстановление половой цикличности у свиноматок происходит через 4,50—4,56 суток после отъема поросят, оплодотворяемость по результатам первого осеменения составляет 85,7—100 %.

Таблица 3

Терапевтическая эффективность комплексных препаратов при синдроме метрит-мастит-агалактия у свиноматок

Показатель	Препараты		
	Метрамаг®-15	Эндометрамаг-Т®	Эндометрамаг-Био®
Количество животных в группе, голов	8	7	10
Количество выздоровевших животных, гол./%	8 / 100	6 / 85,7	9 / 90,0
Кратность введения препарата, раз	2,86 ± 0,22	2,57 ± 0,20	2,56 ± 0,18
Количество живых поросят при рождении, гол	12,0 ± 0,77	11,43 ± 0,48	10,11 ± 1,09
Количество поросят к отъему, гол	10,50 ± 0,26	10,17 ± 0,48	8,67 ± 0,97
Сохранность к отъему, %	87,5	88,9	85,7
Молочность, кг	55,62 ± 2,66	54,26 ± 0,314	54,43 ± 6,69
Масса поросят при рождении, кг	1,37 ± 0,05	1,28 ± 0,03	1,42 ± 0,05
Масса поросят к отъему, кг	6,98 ± 0,28	7,41 ± 0,29	7,99 ± 0,21
Масса гнезда, кг	73,25 ± 5,17	75,33 ± 4,79	68,76 ± 7,49
Осталось под наблюдением свиноматок, гол	8	5	7
Проявило половую цикличность, гол. /%	7 / 87,5	5 / 100	7 / 100
Оплодотворилось после 1-го осеменения, гол. /%	6 / 85,7	4 / 80,0	6 / 85,71

Применение препаратов серии Эндометрамаг® и Метрамаг®-15 показало высокую эффективность при терапии свиноматок с клиническими симптомами метрит-мастит-агалактия. Выздоровление зарегистрировано у 85,7—100 % животных, вне зависимости от способа назначения терапевтических процедур. На 2—3 сутки от начала лечения у больных свиноматок отмечали улучшение общего состояния, нормализацию температуры тела, восстановление аппетита и лактации, снижение болезненности и напряженности тканей пораженных долей молочной железы и отечности сосков. Выделяемый экссудат из наружных половых органов становился менее обильным, слизистым и с просветлениями. Восстановление лактогенеза у свиноматок обеспечило интенсивный рост и развитие поросят, а также высокую их жизнеспособность. Применение комплексных препаратов положительно отразилось на восстановлении репродуктивной функции у маточного поголовья, что подтверждается коротким периодом восстановления половой цикличности у 87,5—100 % животных, при оплодотворяемости 80,0—85,7 %.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Низкая сократительная активность матки у свиноматок при развитии в ней воспалительных процессов играет существенную роль в патогенезе данных заболеваний.

Внутримышечное и внутриматочное введение комплексных лекарственных препаратов, содержащих пропранолол, восстанавливает возбудимость гладкомышечных структур миометрия в течение первого часа и повышает сократительную активность матки на период более 6 часов. Полученные данные подтверждают актуальность использования пропранолола в комплексных лекарственных средствах как для парентерального, так и для локального применения при послеродовых заболеваниях воспалительного характера.

Препараты серии Эндометрамаг® и Метрамаг®-15 являются эффективными лекарственными средствами для терапии свиноматок с клиническими признаками воспаления матки и молочной железы, обеспечивающие восстановление лактогенеза и сохранения воспроизводительной функции.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Конопельцев И. Г.* Устройство для гистерографии / И. Г. Конопельцев, Н. В. Плетенев, С. В. Сурков, А. В. Филатов, В. Н. Шулятьев // Патент на полезную модель RUS27478 11.04.2002.

2. *Распутина О. В.* Оксилат при гнойно-катаральном эндометрите коров. / О. В. Распутина // Ветеринария. — 2003. — № 8. — С. 32—34.

3. *Нежданов А. Г.* Влияние миотропных препаратов на сократительную функцию матки больных эндометритом коров /А.Г. Нежданов, В. И. Михалев, В. В. Филин, Д. А. Ерин // Ветеринария –2013 -No1 –С. 33—35.

4. *Сидоркин В. А.* Опыт применения препарата «Утеротон» в акушерско-гинекологической практике. / В. А. Сидоркин, А. В. Егунова, В. Г. Гавриш, А. Г. Нежданов, К. А. Лободин // Актуальные проблемы болезней органов размножения и молочной железы у животных. — Матер. Междун. науч. — пр. конференции, посвящ. 35-летию организации ВНИВИПФиТ. — Воронеж. — 2005. — с. 299—304.

5. *Филатов А. В.* Научные основы и практические методы применения озона и биологически активных веществ для повышения воспроизводительной способности свиноматок и хряков-производителей: автореф. дис. … док. вет. наук / А. В. Филатов. — Киров, 2005. — 32 с.

6. *Филатов А. В.* Озонированное растительное масло при послеродовых заболеваниях свиней / А. В. Филатов // Ветеринария. — 2006. — № 1. — С. 42—44.

7. *Филин В. В.* Совершенствование метода комплексной фармакотерапии коров при послеродовых воспалительных заболеваниях матки: специальность 06.02.06 «Ветеринарное акушерство и биотехника репродукции животных»: диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук / Филин Василий Васильевич. — Саратов, 2015. — 131 с.

8. *Хлопицкий В.* Профилактика и лечение послеродовых патологий у свиноматок / В. Хлопицкий, А. Филатов // Животноводство России. — 2021. — № S1. — С. 19—22.

9. *Хлопицкий В. П., Шабунин С. В., Михалев В. И.* Воспалительные заболевания репродуктивных органов у маточного поголовья свиней: Методическое пособие. Воронеж: Издательство «ИСТОКИ», 2021. — 98 с.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

А. В. Филатов — профессор кафедры зоогигиены, физиологии и биохимии, доктор ветеринарных наук;
В. П. Хлопицкий — главный ветеринарный врач, доктор ветеринарных наук;
А. В. Минин — главный ветеринарный врач, кандидат ветеринарных наук.

Статья поступила в редакцию 17.07.2022 г.

Original article
UDC 619:615.779.9

UTEROTONIZING EFFECT AND EFFICACY OF PROPRANOLOL HYDROCHLORIDE IN THE COMPOSITION OF COMPLEX DRUGS IN THE THERAPY OF POSTPARTUM INFLAMMATORY DISEASES IN SOWS

Andrey Viktorovich Filatov[*], Vasiliy Petrovich Khlopitskiy[**], Aleksandr Vitalyevich Minin[***]✉

[*]*Vyatka State Agrotechnological University, Kirov, Russia*
[**]*Mosagrogen, Moscow, Russia*
[***]*Vostochnyy, Izhevsk, Udmurtia, Russia, xvp-vet@mail.ru*✉

Abstract. The contractile activity of the uterus and the peculiarities of its reaction to complex drugs containing propranolol hydrochloride were studied. The therapeutic efficacy of the drugs was assessed for different methods of their administration. It has been established that intramuscular administration of Metramag®-15 and intrauterine administration of Endometramag-Bio® activate the contractile function of the uterine myometrium in the first hour after application and prolong it for a period of more than six hours. It has been shown that complex drugs exhibit high therapeutic efficacy in case of postpartum endometritis and mastitis-metritis-agalactia syndrome. With clinical recovery, the restoration of lactogenesis in sows is recorded, which is confirmed by the normalization of growth and development of piglets, as well as their high livability. In the post-weaning period, the breeding stock has a short recovery period of sexual cyclicity with a high efficacy of artificial insemination.
Keywords: propranolol, postpartum diseases, contractile activity of the uterus, therapeutic efficacy, reproduction

The development of industrial pig breeding largely depends on the state of reproductive health of the breeding stock. Registered pathologies lead to a significant economic damage, including reduced productivity, increased veterinary costs and premature culling of animals. The most common form of manifestation of reproductive pathology is the development of an inflammatory process in the uterus and mammary gland in sows in the early postpartum period [5, 6, 8, 9]. The etiopathogenesis of postpartum inflammatory diseases of the uterus and mammary gland presupposes the organization of therapeutic and preventive measures with the use of complex drugs with antimicrobial, anti-inflammatory, immunostimulating and uterotonic effects.

In the clinical practice of veterinary obstetrics, uterotonics used both separately and as part of complex drugs are of no small importance. Propranolol hydrochloride (anaprilin), which is a ß-adrenergic blocking agent and has the ability to induce contractile activity of the myometrium in different animal species when parenterally administered, has received wide practical application in pig breeding [2—4]. However, despite the widespread use of propranolol in animal husbandry, there is no scientific and practical evidence of the effect of propranolol hydrochloride on the inflamed uterus of sows with systemic and local use. The empirical use of a ß-adrenergic blocker in animal husbandry practice is of mixed efficacy. In this regard, the study of the effect of propranolol hydrochloride as part of complex drugs with intramuscular and intrauterine administration on uterine motility, as well as therapeutic efficacy in case of postpartum endometritis and mastitis-metritis-agalactia syndrome in sows, is of particular relevance.

The objective of the research is to study the contractile activity of the uterus and the features of its response to the complex drugs Endometramag® and Metramag®-15 containing propranolol hydrochloride, with different methods of their administration, as well as therapeutic efficacy in case of inflammatory diseases of the uterus and mammary gland in sows.

MATERIAL AND METHODS

Clinical and experimental studies were carried out on the Large White sows on a breeding farm of an industrial-type at a pig-breeding complex. The animal housing system is without walking, when they are placed in production facilities using Big Dutchman

© Filatov A. V., Khlopitskiy V. P., Minin A. V., 2022

technological equipment. The diet of lactating sows included complete feed SK-2.

The contractile function of the uterus in sows was studied by the method of internal hysterography using the device Hysterograph [1]. Hysterogram records were performed in 10 sows with clinical signs of postpartum purulent-catarrhal endometritis, which were intramuscularly and intrauterinely injected with the complex drugs Metramag®-15 and Endometramag-Bio® that contain propranolol hydrochloride. In the analysis of hysterograms, the frequency of contractions for 30 minutes, their amplitude and duration were determined. According to their results, the contraction index was calculated. The study of the therapeutic efficacy of Metramag®-15, Endometramag-T®, Endometramag-K® and Endometramag-Bio® was carried out on the sows with postpartum purulent-catarrhal endometritis and the symptom complex of mastitis-metritis-agalactia. Metramag®-15 was intramuscularly injected to the animals with signs of postpartum diseases at a dose of 10 ml with an interval of 48 hours. The drugs of Endometramag® series were instilled intrauterine at a dose of 75.0 ml per animal with a 24-hour interval. The efficacy of therapeutic measures was assessed by the number of recovered animals, the frequency of administration of the drug, the intensity of development of piglets and their livability, the restoration of sexual cyclicity in sows after weaning, and the fertility of females in the first sexual cycle.

STUDY RESULTS

The analysis of the obtained hysterograms has shown that the use of propranolol as part of complex drugs with different methods of their administration activates the contractility of the uterine myometrium of pigs with clinical signs of endometrial inflammation (Table 1). The initial level of contractile activity of the uterus has been characterized by a low contraction index of 85.13—98.09 units, which indicates its pronounced hypotension in sows. This is probably due to the internal hormonal background in the breeding stock of pigs in the early postpartum period, which is characterized by a high level of progesterone and low level of estrogen hormones due to the weak activity of folliculogenesis in the ovaries. On hysterograms taken from animals, frequent, short contractions with a very low amplitude are recorded, which makes it difficult to evacuate the contents from the uterine cavity, thereby playing a significant role in complicating the pathological process during the development and course of postpartum endometritis and mastitis-metritis-agalactia syndrome.

Table 1

Dynamics of contractile activity of the uterus in sows with postpartum endometritis under the effect of drugs containing propranolol hydrochloride

Studied indicator	Route of administration	Initial value	Time period after injection, min.		
			60	180	360
Contraction frequency / 30 min.	Intramuscular	5.80 ± 0.20	4.60 ± 0.60	5.40 ± 0.60	5.80 ± 0.92
	Intrauterine	6.67 ± 0.67	5.00 ± 1.15	5.33 ± 0.67	5.33 ± 0.33
Amplitude of contractions, mm. Hg	Intramuscular	6.21 ± 0.77	13.25 ± 1.16***	12.97 ± 1.20**	9.22 ± 1.02*; o
	Intrauterine	6.04 ± 0.58	10.43 ± 2.52	12.19 ± 2.09*	9.38 ± 1.42
Duration of contractions, min.	Intramuscular	2.80 ± 0.26	4.57 ± 0.67*	3.86 ± 0.54	3.23 ± 0.29
	Intrauterine	2.02 ± 0.18	3.81 ± 0.64	3.45 ± 0.15**	2.87 ± 0.18*
Contraction index, units	Intramuscular	98.09 ± 1.96	262.10 ± 40.08**	259.29 ± 30.96***	158.41 ± 6.90***; o
	Intrauterine	85.13 ± 22.69	189.42 ± 63.27	226.08 ± 57.90	138.80 ± 7.66

* $P < 0.05$
** $P < 0.01$
*** $P < 0.001$ — relative to the baseline values
o $P < 0.05$ — relative to the previous level

Sixty minutes after the introduction of the complex drugs with uterotonic action in different ways, identical changes in indicators were observed. On hysterograms taken from sows with postpartum endometritis, contractions with high amplitude and duration are recorded, which indicates the restoration of the excitability of the smooth muscle structures of the myometrium and a moderate activation of its contractility. Thus, with intramuscular administration of the drug, there was a decrease in the frequency of contractions of smooth muscle fibers by 20.7 %, and with intrauterine administration — by 25.0 %. Against this background, with parenteral administration, the amplitude and duration of myometrial contraction increased by 2.1 times ($p < 0.01$) and 1.6 times ($p < 0.05$), respectively, and with intrauterine instillation — by 1.7 times and 1.4 times, respectively. The contraction index over this period increased by 2.7 times ($p < 0.01$) and 2.2 times.

One hundred and eighty minutes after the experiment onset, the contractile activity of the uterus with intramuscular injection remains high at the same level, and with intrauterine — it continues to grow. Thus, with parenteral injection, there is a slight increase in the frequency of contractions with a decrease in their amplitude and duration, which provides identical values of the level of the contraction index at the level of 259.29 ± 30.96 units. The analysis of the indicators of the uterine structures activity over the studied period of time in relation to the initial values showed an increase in the level of the amplitude of contractions by 2.09 times ($P < 0.01$), duration — by 1.38 times and the contraction index — by 2.64 times ($P < 0.001$). At the same time, with local administration, an increase in the frequency of contractions, amplitude and contraction index by 6.60 %, 16.87 % and 19.35 % was noted, compared to the previous study period. One hundred and eighty minutes from the start of registration of contractile activity after the introduction of the drug into the uterine cavity, a further increase in the amplitude of contractions by 2.02 times ($P < 0.05$) and their duration by 1.71 times ($P < 0.01$) was noted. Against this background, the contraction index increased by 2.65 times.

In 360 minutes, against the background of different methods of using drugs containing propranolol hydrochloride, a weakening of the motility of the uterine structures was noted in relation to the intermediate period of the study. With parenteral administration, a decrease in the amplitude of contractions by 28.91 % ($P < 0.05$), their duration — by 16.32 % and the contraction index — by 38.90 % ($P < 0.05$) was recorded, and with intrauterine — by 23 .25 %, 16.81 % and 38.61 %, respectively. However, in the study period after intramuscular injection, the values of the initial level indicators were higher in terms of the amplitude of contractions by 48.47 % ($P < 0.05$), their duration — by 15.36 % and the contraction index — by 61.49 % ($P < 0.001$), and after intrauterine instillation by 1.55, 1.42 ($P < 0.05$) and 1.63 times, respectively.

Therefore, parenteral and intrauterine administration of drugs containing a β-blocking agent activates the contractile function of the uterus in the first hour after application and prolongs it for a period of more than six hours. The results obtained are consistent with the data of Filin [7], who has found that when the drug with the active ingredient propranolol is administered parenterally to cows with postpartum endometritis, the contractile activity of the uterus is by 2.5—3.8 times higher within 6—12 hours. Therefore, in clinical practice, it is necessary to take into account the duration of the uterotonic effect of propranolol in the treatment of the sows with clinical signs of endometritis.

In addition to the established uterotonic effect and the relevance of propranolol in the treatment of postpartum diseases of a nonspecific inflammatory nature, the high therapeutic efficacy of complex drugs in case of postpartum endometritis and mastitis-metritis-agalactia syndrome in sows has been confirmed (Tables 2 and 3).

In the treatment of sows with postpartum endometritis with the drugs of Endometramag® and Metramag®-15 series, clinical recovery was recorded in all animals. To achieve the therapeutic effect of Metramag®-15, 2.5 injections were required, and Endometramag® — 1.71—1.95 intrauterine injections. A rapid decrease in the inflammatory response has caused the preservation of lactogenesis in the breeding stock, which is confirmed by the results of the high milk yield of sows, the rate of body weight gain and the livability of piglets during the lactation period. Intramuscular and intrauterine administration of drugs, along with high clinical efficacy, ensures the preservation of the reproductive ability of animals. Restoration of sexual cyclicity in sows occurs 4.50—4.56 days after the weaning of piglets, the fertility according to the results of the first insemination is 85.7—100 %.

The use of the drugs of Endometramag® and Metramag®-15 series showed high efficacy in the treatment of sows with clinical symptoms of mastitis-metritis-agalactia. Recovery was registered in 85.7—100 % of animals, regardless of the method of prescribing therapeutic procedures. On day 2—3 from the treatment onset in sick sows, an improvement in the general condition, normalization of body temperature, restoration of appetite and lactation, a decrease in sore-

ness and tension in the tissues of the affected lobes of the mammary gland and swelling of the nipples were noted. The secreted exudate from the external genital organs became less abundant, mucous and with enlightenments. The restoration of lactogenesis in sows ensured intensive growth and development of piglets, as well as their high viability. The use of the complex drugs had a positive effect on the restoration of reproductive function in the breeding stock, which was confirmed by a short period of restoration of sexual cyclicity in 87.5—100 % of animals, with a fertility rate of 80.0—85.7 %.

Table 2

Efficacy of complex drugs in the treatment of the sows with postpartum endometritis

Indicators	Drugs			
	Metra-mag®-15	Endometra-mag-T®	Endometra-mag-K®	Endometra-mag-Bio®
Number of animals in the group, animal units	20	20	17	20
Number of recovered animals, animal units/%	20 /100	20 /100	17 / 100	20 / 100
Frequency of drug administration, times	2.5 ± 0.11	1.95 ± 0.09	1.71 ± 0.11	1.95 ± 0.11
Number of alive piglets at birth, animal units	11.14 ± 0.37	10.95 ± 0.46	11.00 ± 0.42	11.10 ± 0.47
Number of piglets to wean, animal units	10.25 ± 0.29	10.35 ± 0.45	10.29 ± 0.24	10.45 ± 0.38
Livability at weaning, %	92.01	94.52	93.55	94.14
Milkability, kg	56.61 ± 1.97	65.85 ± 3.03	64.82 ± 2.69	65.55 ± 2.94
Weight of piglets at birth, kg	1.31 ± 0.02	1.35 ± 0.03	1.48 ± 0.03	1.48 ± 0.03
Weight of weaned piglets, kg	6.83 ± 0.31	7.87 ± 0.18	8.03 ± 0.29	7.66 ± 0.24
Nest weight (weight of all piglets), kg	70.0 ± 4.33	81.30 ± 3.72	82.35 ± 2.72	79.90 ± 3.60
Remained under supervision of sows, animal units	17	17	14	17
Showed sexual cyclicity, animal units /%	17 / 100	17/100	14 / 100	16 / 94.12
Manifestation of estrus signs, days	4.50 ± 0.13	4.51 ± 0.12	4.56 ± 0.16	4.50 ± 0.16
Fertilized after the 1st insemination, animal units /%	16 / 94.1	15/88.24	12 / 85.71	16 / 100

Table 3

Therapeutic efficacy of complex drugs for mastitis-metritis-agalactia syndrome in sows

Indicators	Drugs		
	Metramag®-15	Endometra-mag-T®	Endometra-mag-Bio®
1	2	3	4
Number of animals in the group, animal units	8	7	10
Number of recovered animals, animal units/%	8 / 100	6 / 85.7	9 / 90.0
Frequency of drug administration, times	2.86 ± 0.22	2.57 ± 0,20	2.56 ± 0.18
Number of alive piglets at birth, animal units	12.0 ± 0.77	11.43 ± 0,48	10.11 ± 1.09
Number of piglets to wean, animal units	10.50 ± 0.26	10.17 ± 0,48	8.67 ± 0.97
Livability at weaning, %	87.5	88.9	85.7
Milkability, kg	55.62 ± 2.66	54.26 ± 0.314	54.43 ± 6.69

Table 3 (the end)

1	2	3	4
Weight of piglets at birth, kg	1.37 ± 0.05	1.28 ± 0.03	1.42 ± 0.05
Weight of weaned piglets, kg	6.98 ± 0.28	7.41 ± 0.29	7.99 ± 0.21
Nest weight (weight of all piglets), kg	73.25 ± 5.17	75.33 ± 4.79	68.76 ± 7.49
Remained under supervision of sows, animal units	8	5	7
Showed sexual cyclicity, animal units /%	7 / 87.5	5 / 100	7 / 100
Fertilized after the 1st insemination, animal units /%	6 / 85.7	4 / 80.0	6 / 85.71

CONCLUSION

The low contractile activity of the uterus in sows with the development of inflammatory processes in it plays a significant role in the pathogenesis of these diseases. Intramuscular and intrauterine administration of complex drugs containing propranolol restores the excitability of the smooth muscle structures of the myometrium during the first hour and increases the contractile activity of the uterus for a period of more than 6 hours. The data obtained confirm the relevance of the use of propranolol in complex drugs for both parenteral and local use in case of postpartum inflammatory diseases. The drugs of Endometramag® and Metramag®-15 series are effective drugs for the treatment of sows with clinical signs of inflammation of the uterus and mammary gland, ensuring the restoration of lactogenesis and the preservation of reproductive function.

RREFERENCES

1. *Konopeltsev I. G.* Device for hysterography / I. G. Konopeltsev, N. V. Pletenev, S. V. Surkov, A. V. Filatov, V. N. Shulyatyev // Utility model patent RUS27478 11.04.2002.

2. *Rasputina O. V.* Oxylate in case of purulent-catarrhal endometritis of cows. / O. V. Rasputin // Veterinariya (Veterinary medicine). — 2003. — No. 8. — P. 32—34.

3. *Nezhdanov A. G.* Effect of myotropic drugs on the contractile function of the uterus in cows with endometritis / A. G. Nezhdanov, V. I. Mikhalev, V. V. Filin, D. A. Erin // Veterinariya (Veterinary medicine) –2013 –No.1 — P. 33—35.

4. *Sidorkin V. A.* Experience in the use of the drug «Uteroton» in obstetric and gynecological practice. / V. A. Sidorkin, A. V. Egunova, V. G. Gavrish, A. G. Nezhdanov, K. A. Lobodin // Actual problems of the reproductive organs and mammary gland diseases in animals. — Mater. of Intern. Scientific and practical conferences dedicated to 35th anniversary of the organization ARVRIPP&T. — Voronezh. — 2005. — p. 299—304.

5. *Filatov A. V.* Scientific basis and practical methods for the use of ozone and biologically active substances to increase the reproductive capacity of sows and breeding boars: abstract of a thesis. … Doc. of Vet. Sciences / A. V. Filatov. — Kirov, 2005. — 32 p.

6. *Filatov A. V.* Ozonated vegetable oil for postpartum diseases of pigs / A. V. Filatov // Veterinariya (Veterinary medicine). — 2006. — No. 1. — P. 42—44.

7. *Filin V. V.* Improving the method of complex pharmacotherapy of cows with postpartum inflammatory diseases of the uterus: specialty 06.02.06 «Veterinary obstetrics and biotechnology of animal reproduction»: thesis for the degree of Candidate of Veterinary Sciences / Filin Vasiliy Vasilyevich. — Saratov, 2015. — 131 p.

8. *Khlopitskiy V.* Prevention and treatment of postpartum pathologies in sows / V. Khlopitskiy, A. Filatov // Zhivotnovodstvo Rossii (Animal husbandry of Russia). — 2021. — No. S1. — P. 19—22.

9. *Khlopitskiy V. P., Shabunin S. V., Mikhalev V. I.* Inflammatory diseases of the reproductive organs in the breeding stock of pigs: methodological guide. Voronezh: ISTOKI Publishing House, 2021. — 98 p.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

A. V. Filatov — Professor of the Department of Animal Hygiene, Physiology and Biochemistry, Doctor of Veterinary Sciences;

V. P. Khlopitsiky — Chief Veterinarian, Doctor of Veterinary Sciences;

A. V. Minin — Chief Veterinarian, Candidate of Veterinary Sciences.

The article was submitted 17.07.2022.

Научная статья
УДК 619:661.155:616.34:636.592
DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.3.103

ВЛИЯНИЕ КОРМОВЫХ ДОБАВОК ПРОФОРТ И ЛИКВАФИД НА СОСТОЯНИЕ МИКРОФЛОРЫ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ИНДЕЕК КРОССА ХАЙБРИД КОНВЕРТЕР

Вячеслав Иванович Котарев*✉, Людмила Викторовна Лядова*, Даниил Андреевич Белоусов*, Владислав Николаевич Большаков**

**Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, kotarev60@ya.ru✉*
***БИОТРОФ+, Санкт-Петербург, Россия*

Аннотация. В статье представлены результаты исследований влияния кормовых добавок на качественные, и количественные характеристики микробного сообщества желудочно-кишечного тракта индеек кросса Хайбрид Конвертер. Были отобраны образцы содержимого слепых отростков кишечника индеек в трех группах (двух опытных и одной контрольной). При изучении микрофлоры желудочно-кишечного тракта индеек использовали один, из наиболее перспективных на сегодняшний день метод NGS-секвенирование. Анализ материала проводился в лаборатории молекулярно-генетических исследований научно-производственной компании «БИОТРОФ+». Применение кормовых добавок оказало положительное влияние на микрофлору индеек. Увеличивалось количество полезной микрофлоры и угнеталась концентрация патогенных микроорганизмов.

Ключевые слова: птицеводство, индейки, пробиотики, бактерии, желудочно-кишечный тракт, микрофлора.
Благодарности: исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-316-90010

Обеспечение населения страны безопасными и качественными продуктами питания — является приоритетной задачей. Птицеводство — одна из отраслей способных поставлять в короткие сроки на прилавки диетическое мясо. При интенсивном производстве, для предотвращения распространения инфекционных заболеваний используют антибиотики. В результате чего, снижается естественная резистентность микрофлоры желудочно-кишечного тракта птицы [1, 2]. Нарушение нормоэнтеробиоценоза приводит к возникновению дисбиотических, патологических состояний, нарушению процессов пищеварения (ухудшение всасывания питательных веществ), снижению продуктивности и увеличению заболеваемости птицы [3].

Основным кормом для птиц являются зерновые, богатые клетчаткой. Возникает проблема усвоения питательных веществ, так как у птиц практически отсутствуют собственные пищеварительные ферменты для расщепления целлюлоз и других некрахмалистых полисахаридов [3]. В результате, в тонком отделе кишечника образуется вязкая суспензия, обволакивающая кормовую массу, которая препятствует доступу к питательным веществам кормов собственных эндогенных ферментов птицы. Это приводит к снижению уровня их гидролиза. У молодняка и взрослой птицы наблюдается жидкий, клейкий помет [3—5].

Наибольшую нагрузку птица испытывает в постэмбриональный период развития, когда ее переводят на высокопитательные корма. Именно в этот период важно обеспечение легкоусвояемыми кормами и биологическими добавками, оказывающими положительное влияние на пищеварительные и обменные процессы [6].

Пробиотики на основе бактерий рода Bacillus, позволяют защитить организм птиц от кишечных патогенов, устранить дисбактериоз при антибиоти-

© Котарев В. И., Лядова Л. В., Белоусов Д. А., Большаков В. Н., 2022

котерапии, улучшить переваривание пищи [7—10]. Помимо антагонистических свойств в отношении кишечных патогенов представители рода Bacillus обладают способностью вырабатывать ферменты: амилазу, липазу, протеазу, пектиназу, целлюлазу, фитазу, необходимые для успешного расщепления пищи, ферментации питательных веществ, содержащихся в корме, оказывают (фермент фитаза) положительное влияние на повышение биологической доступности фосфора, увеличению его отложения в организме птицы, расщеплению целлюлоз и других некрахмалистых полисахаридов [11—14].

Желудочно-кишечный тракт птиц содержит широкое микробное разнообразие. Наибольшая численность микроорганизмов сконцентрирована в слепых отростках кишечника птицы. Микрофлора слепых отростков поддерживает гомеостаз макроорганизма, играет важную роль в процессах переваривания пищи [15—17]. Актуальным является изучение влияния кормовых пробиотических добавок на микрофлору желудочно-кишечного тракта, рост и развитие птицы, а, следовательно, повышение продуктивности [18, 19].

Целью работы являлось изучение влияния пробиотических, мультифункциональных кормовых добавок, содержащих бактерии рода Bacillus, Профорт и Ликвафид, на микрофлору желудочно-кишечного тракта индеек кросса Хайбрид Конвертер.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Производственный опыт был проведен в хозяйстве ООО «Кривец Птица», Добровского района, Липецкой области. Объектом исследования являлись индейки кросса Хайбрид Конвертер. Выделяли три группы птиц по 12 тыс. голов: 1 опытная группа — в рацион включали кормовую добавку Профорт; 2 опытная группа — в рацион включали водорастворимую пробиотическую добавку Ликвафид; 3 группа — контрольная. Применение кормовых добавок проводилось на протяжении 60 дней. Кормовую добавку Профорт, применяли из расчета 1 кг на 1 тонну ПК. Пробиотик Ликвафид выпаивали из расчета 50 г на 1 т воды.

В момент убоя (98 день) были отобраны образцы содержимого слепых отростков кишечника индеек в трех группах: по четыре повторности в опытных (№ 1, № 2, № 3, № 4 — Профорт; № 5, № 6, № 7, № 8 — Ликвафид) и две повторности в контрольной (№ 9, № 10).

Изучение микрофлоры слепых отростков индеек проводилось одним из наиболее перспективных на сегодняшний день методом NGS-секвенирование (англ. next generation sequencing). Применение технологий секвенирования нового поколения позволяет проводить метагеномные исследования сложных микробных сообществ с большим объемом прочтенных нуклеотидных последовательностей. При этом возможно точное определение филогенетической принадлежности микроорганизмов до вида.

Исследования проводились в лаборатории молекулярно-генетических исследований научно-производственной компании «БИОТРОФ+».

Результаты обработаны с использованием прикладной статистической программы «Statistica 8.0» («Stat-Soft, Inc», USA).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В лаборатории молекулярно-генетических исследований научно-производственной компании «БИОТРОФ+», был определен состав микрофлоры пищеварительного тракта индеек, что позволило оценить действие кормовых добавок Профорт и Ликвафид на микрофлору кишечника. В составе нормофлоры обнаружены лактобактерии, бифидобактерии, бациллы, целлюлозолитики, ЛЖК-синтезирующие бактерии.

Лактобактерии, во всех исследованных пробах, были представлены родами Lactobacillus spp., Lactococcus spp., Leuconostoc spp., относящимися к порядку Lactobacilliales. В кишечнике птиц они проявляют антимикробную и иммуномодулирующую активность.

Выполняют синтез антимикробных пептидов, витаминов, некоторых незаменимых аминокислот, лактата, необходимого для производства летучих жирных кислот ЛЖК-продуцирующими бактериями.

Концентрация лактобактерий в слепых отростках индеек опытных групп, в рационе которых использовались кормовые пробиотические добавки Профорт и Ликвафид, была выше чем в контрольной на 2,96 % и 5,77 % соответственно (рис. 1).

Использование водорастворимого пробиотика Ликвафид повышало количество лактобактерий до 12 % (образец № 5), что является хорошим качественным показателем общей микрофлоры.

Бифидобактерии в кишечнике птиц обладают иммуномодулирующей активностью. Участвуют в синтезе витаминов и некоторых незаменимых аминокислот. Максимальное содержание бифидобактерий в слепых отростках индеек не превышало 0,54 % (в пробе № 5) (рис. 2).

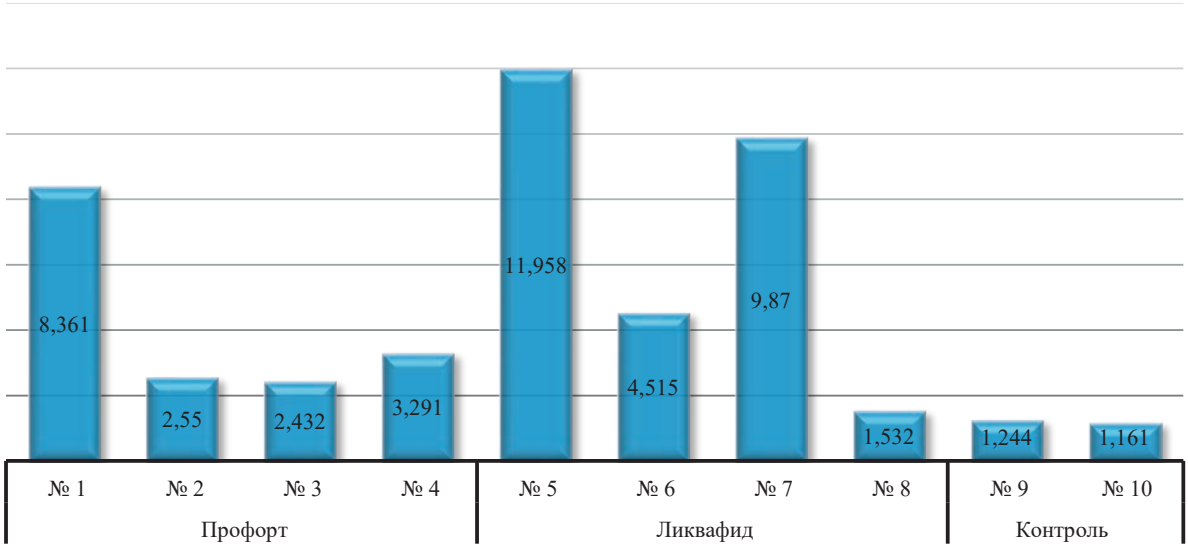


Рис. 1. Содержание лактобактерий, %

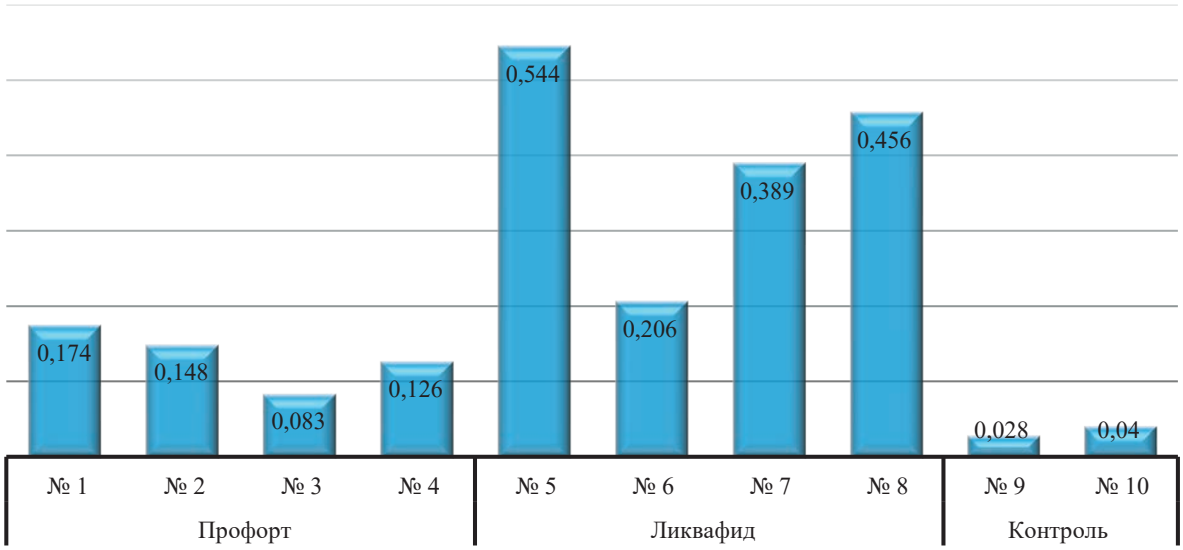


Рис. 2. Содержание бифидобактерий, %

При этом, по отношению к контролю, концентрации грамположительных анаэробных бактерий Bifidobacterium, в опытных группах достоверно повышалась на 0,37 % ($p < 0,05$) в группе с применением Ликвафид, и на 0,10 % в группе — Профорт.

Бациллы в кишечнике индеек оказывают антимикробное действие в отношении патогенной микрофлоры, протеолитическую и ферментативную активность к белкам и углеводам кормов. Количество бацилл, во всех исследуемых пробах, было низким и не превышало 0,35 %. Наиболее высокое содержание полезных бацилл в кишечнике птицы обнаружено в пробах № 1 — 0,35 % и № 5 — 0,33 % (рис. 3). Важную роль в пищеварении птиц играют целлюлозолитические бактерии. Они расщепляют клетчатку кормов, переваривание которой у птиц вызывает затруднения, в связи с отсутствием в организме соответствующих ферментов (целлюлаза, β-глюканаза и др.). Среди представителей целлюлозолитических бактерий были выявлены семейства Peptostreptococcacea, Clostridiaceae, Eubacteriaceae, Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, рода Bacteroidales и Thermoanaerobacteriales (рис. 4).

Как видно из рисунка 4, доля целлюлозолитических бактерий в исследованных образцах содержимого слепых отростков кишечника индеек, была представлена в высоких количествах. В опытной группе с применением в рационе кормовой добавки Профорт среднее содержание целлюлозолитиков составило 78,89 %, что на 31,3 % выше чем

в контрольных образцах. Наибольшее влияние Профорт оказал на формирование штамма Bacteroidales, способного ферментировать крахмалистые компоненты кормов, среднее содержание этих бактерий составило 45,42 %, что в 2,1 раза превысило их концентрацию в образцах контрольной группы. Численность целлюлозолитиков семейства Ruminococcaceae в этой группе находилась на уровне 15,36 %, что на 5,5 % ($p < 0,05$) выше, чем в контрольных образцах. Также, в небольших количествах, были обнаружены целлюлозолитические бактерии семейства Lachnospira — 8,9 %, продуцирующие карбоновые и короткоцепочечные жирные кислоты: масляную (основную) и уксусную; Flavobacterium — 0,53 %; Eubacterium — 4,18 %, способные преобразовывать холестерин в копростанол, участвовать в деконъюгации желчных кислот. Большинство видов эубактерий являются сахаролитическими, то есть способными ферментировать углеводы с накоплением короткоцепочечных жирных кислот. В опытных образцах снижалось содержание Clostridium — на 1,68 %.

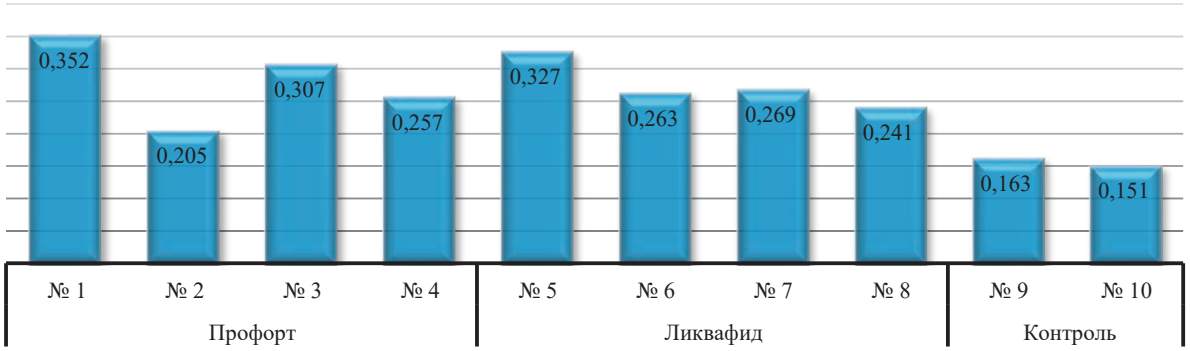
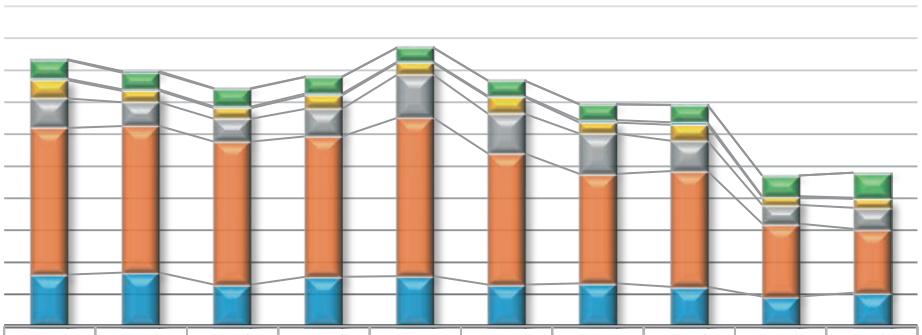


Рис. 3. Содержание бацилл, %



	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	№ 8	№ 9	№ 10
	Профорт				Ликвафид				Контроль	
Thermoanaerobacterales	0,313	0,477	0,158	0,132	0,087	0,085	0,073	0,058	0,007	0,028
Clostridiaceae	5,765	5,228	5,518	5,171	4,399	4,725	4,968	5,35	6,386	7,812
Flavobacteriaceae	0,479	0,528	0,564	0,538	0,351	0,425	0,767	0,856	0,335	0,349
Eubacteriaceae	5,669	3,465	3,282	4,296	3,709	5,19	3,407	4,934	2,417	2,793
Lachnospiriaceae	9,212	7,452	7,15	8,535	13,447	12,377	12,576	9,537	5,906	6,576
Bacteroidales	45,822	45,769	44,681	43,895	49,422	40,98	34,262	36,121	22,752	19,993
Ruminococcaceae	16,149	16,802	13,015	15,488	15,679	13,015	13,399	12,353	9,323	10,476

Рис. 4. Содержание целлюлозолитиков, %

Выпаивание пробиотика Ликвафид, также привело к увеличению содержания целлюлозолитиков — концентрация этих бактерий составляла 75,64 %, что на 28,06 % выше чем в контрольных образцах. Достоверно повышалась концентрация штаммов Lachnospiriaceae — на 5,74 % ($p < 0,01$), Bacteroidales — на 18,83 % ($p < 0,05$) и Ruminococcaceae — на 3,70 % ($p < 0,05$). Бактерии рода Clostridiaceae в опытных образцах, были в меньшем количестве чем в контрольных на 2,24 %.

ЛЖК-синтезирующие бактерии, обладают важной способностью, ферментировать лактат с обра-

зованием летучих жирных кислот используемых организмом птиц в процессах метаболизма. Содержание ЛЖК-синтезирующих бактерий в слепых отростках индеек опытных групп было выше чем в контрольной группе (рис. 5). Применение пробиотика Профорт способствовало росту ЛЖК-бактерий повышая их численность на 0,6 %, а использование водораствовимой кормовой добавки Ликвафид — на 0,5 %, относительно контроля.

Концентрация условно-патогенных видов бактерий, в исследованных пробах, была незначительной, как видно из таблицы.

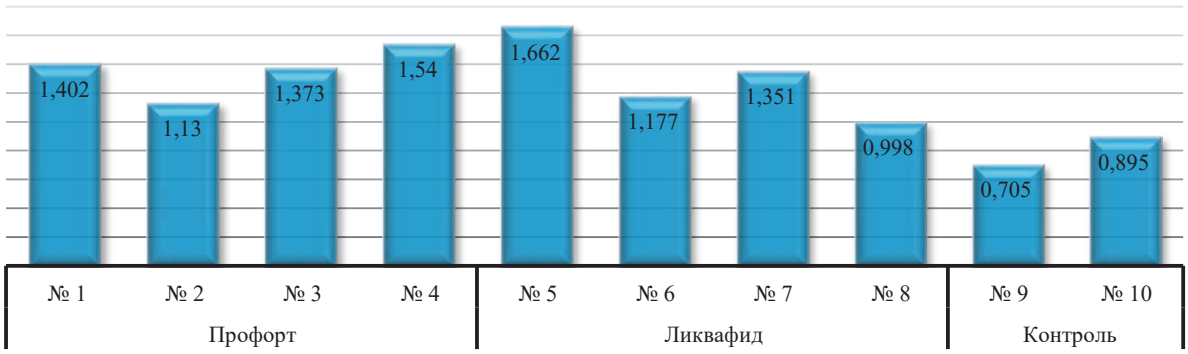


Рис. 5. Содержание ЛЖК-синтезирующих бактерий, %

Таблица

Средняя численность микроорганизмов в исследованных пробах, %

Микроорганизмы	Профорт	Ликвафид	Контроль
Нормофлора			
Руминококки	15,36 ± 1,65*	13,61 ± 1,44*	9,90 ± 0,82
Бактероиды	45,04 ± 0,93***	40,20 ± 6,77*	21,37 ± 1,95
Лахноспиры	8,09 ± 0,96	11,98 ± 1,70**	6,24 ± 0,47
Эубактерии	4,18 ± 1,09	4,31 ± 0,88	2,61 ± 0,27
Флавобактерии	0,53 ± 0,04***	0,60 ± 0,25	0,34 ± 0,01
Клостридии	5,42 ± 0,56	4,86 ± 1,27	7,10 ± 0,23
Термоанаэробактерии	0,27 ± 0,16	0,08 ± 0,01**	0,02 ± 0,01
Сумма целлюлозолитиков	78,89	75,64	47,58
Вейлионеллы	1,36 ± 0,17	0,94 ± 0,20*	1,51 ± 0,22
Лактобактерии	4,16 ± 2,82	6,97 ± 4,79	1,20 ± 0,06
Бифидобактерии	0,13 ± 0,04*	0,40 ± 0,14*	0,03 ± 0,01
Бациллы	0,28 ± 0,06**	0,27 ± 0,04***	0,16 ± 0,01
ЛЖК-синтезирующие бактерии	1,36 ± 0,17*	1,29 ± 0,28	0,80 ± 0,13
Условно-патогенная микрофлора			
Энтерококки	0,15 ± 0,008**	0,03 ± 0,005***	0,51 ± 0,090

* $p < 0,05$
** $p < 0,01$
*** $p < 0,001$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты анализа микробного сообщества слепых отростков кишечного тракта индеек, с использованием молекулярно-генетических методов NGS-секвенирования, позволили установить положительное влияние применения пробиотических кормовых добавок Профорт и Ликвафид на качественный и количественный состав микрофлоры слепых отростков. Так, относительно контроля возрастало содержание представителей нормофлоры. Концентрация Лактобактерий — на 5,8 % (группа Ликвафид) и 3,0 % (группа Профорт); Целлюлозолитиков — на 28,6 % (Ликвафид) и 31,3 % (Профорт); ЛЖК-синтезирующих бактерий — на 0,6 % и 0,5 % соответственно.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Бобылева Г. А.*. Тенденции развития отрасли птицеводства / Г. А. Бобылева // Птица и птицепродукты. — 2014 г. — № 4. —— стр. 14—17.

2. *Грозина А. А.* Состав микрофлоры желудочно-кишечного тракта у цыплят-бройлеров при воздействии пробиотика и антибиотика / по данным T-RFL–RT-PCR. Сельскохозяйственная биология — 2014 г. — № 6. — С. 46—58.

3. *Ноздрин Г. А.* Влияние пробиотического препарата «Ветом 1» на физиологическое состояние индеек / Г. А. Ноздрин // Теория и практика современной аграрной науки: сб. Национальной (Всероссийской) научной конференции. — Новосибирский государственный аграрный университет.). — 2018 г. — С. 422—424.

4. *Лопарев Н. П.* Видовой состав микрофлоры пищеварительной системы индеек бройлеров в ранний период онтогенеза / Н. П. Лопарев, В. И. Плешаков, Н. А. Лещева // Вестник Омского ГАУ. — № 3(35). — 2019 г. — С. 63—67.

5. *Li P.* Characterization and probiotic potency of Bacillus sp. DU-106, a highly effective producer of L-lactic acid isolated from fermented yogurt /. P Li, W. Genomic, Z. Tian, Z. Jiang, X. Liang, B. Du // Frontiers in Microbiology. 2018 J. — № 9. — pp. 2216.

6. *Плешакова В. И.* Микробиоценоз желудочно-кишечного тракта у индеек / В. И. Плешакова, Н. А. Лещева, Л. М. Гелярная // Птицеводство — 2017 г. — № 7. — С. 37—40.

7. *Феоктистова Н. В.* Пробиотики на основе бактерий рода Bacillus в птице-водстве / Н. В. Феоктистова [и др.] // Ученые записки Казанского университе-та. Серия: Естественные науки. — 2017. — Т. 159. — № 1. — С. 85—107.

8. *Ушакова Н. А.* Новое поколение пробиотических препаратов кормового назначения / Н. А. Ушакова, Р. В. Некрасов, В. Г. Правдин, Л. З. Кравцова, О. И. Бобровская, Д. С. Павлов // Фундаментальные исследования. — 2012. — № 1. — С. 184—192.

9. *Топурия Л. Ю.* Фармакологические аспекты применения пробиотиков в бройлерном птицеводстве / Л. Ю. Топурия, Г. М. Топурия, Г. В. Григорьева // Оренбург: Изд. центр ВНИИМС, 2012. — 95. — с. 15.

10. *Савустьяненко А. В.* Механизмы действия пробиотиков на основе Bacil-lus Subtilis / А. В. Савустьяненко // Актуальная инфектология. — 2016. — № 2 (11). — С. 35—43.

11. *Пышманцева Н.* Пробиотики повышают рентабельность птицеводства / Н. Пышманцева, Н. Ковехова, В. Савосько. // Птицеводство. — 2011. — № 2. — С. 36—38.

12. *Collins M. D.* Probiocics, prebiotics, and synbiotics: Approaches for modu-latingthe microbial ecology of the gut / M. D. Collins, G. R. Gibson // Am. J. Clin. Nutr. — 1999. — V. 69, № 5. — P.1052—1057.

13. *De Vrese, M.* Probiotics, prebiotics, and synbiotics / *De M.* Vrese, J. Schrezenmeir // Adv. Biochem.Eng. Biotechnol. — 2008. — V. 111. — P. 1—66.

14. *Blanch A.* Use of probiotics in poultry nutrition / A. Blanch, M. Rouault // Proceedings of the 10th Turkey Science and Production Conference, Chester, UK. — 2016. — pp. 73—78.

15. *Бовкун Г. Ф.* Динамика формирования микробиоценоза кишечника у молодняка кур / Г. Ф. Бовкун // Птицеводство. — 2017 г. — № 2. С. 32—36.

16. *Георгиевский В. И.* Физиология сельскохозяйственных животных / В. И. Георгиевский — М.: Агропромиздат, 2009. — 511 с.

17. *Котарев В. И.* Химический состав мышечной ткани индеек при использо-вании в рационе пробиотической добавки Профорт/ В. И. Котарев, Л. В. Лядова, Д. А. Белоусов // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2021. — № 1. (14). — С. 27—34.

18. *Al-Thubiani, A.S.A.* Identification and characterization of a novel antimicrobial peptide compound produced by Bacillus megaterium strain isolated from oral microflora / A.S.A. Al-Thubiani, A. Fathi, M.A.S. Abourehab, M. Alarjah, M.S.A. Khan, S. B. Al-Ghamdi // Saudi Pharmaceutical Journal. — 2018J. — № 26 (8)). — pp. 1089—1097.

19. *Malanicheva I. A.* Antimicrobial activity of Bacillus megaterium strains // I. A. Malanicheva, D. G. Kozlov, I. G. Sumarukova, O. V. Efremenkova, V. A. Zenkova, G. S. Kat-rukha, M. I. Reznikova, O. D. Tarasova, S. P. Sineokiĭ, // Microbiology. — 2012J. Él'-Registan — № 81. — pp. 178—185.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

В. И. Котарев — доктор сельскохозяйственных наук, профессор, главный научный сотрудник;
Л. В. Лядова — кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник;
Д. А. Белоусов — аспирант, младший научный сотрудник;
В. Н. Большаков — кандидат сельскохозяйственных наук, главный специалист.

Статья поступила в редакцию 20.06.2022 г.

Original article
UDC 619:661.155:616.34:636.592

EFFECT OF THE FEED ADDITIVES PROFORT AND LIKVAFID ON THE STATE OF THE GASTROINTESTINAL TRACT MICROFLORA OF TURKEYS OF HYBRID CONVERTER CROSS

Vyacheslav Ivanovich Kotarev*✉, Lyudmila Viktorovna Lyadova*, Daniil Andreevich Belousov*, Vladislav Nikolaevich Bolshakov**

[1]*All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia, kotarev60@ya.ru*✉
[2]*BIOTROF+, St. Petersburg, Russia*

Abstract. The article presents the results of studies of the effect of the feed additives on the qualitative and quantitative characteristics of the microbial community of the gastrointestinal tract of turkeys of Hybrid Converter cross. The samples of the contents of the cecum of the intestines of turkeys were taken in three groups (two experimental groups and one control group). When studying the microflora of the gastrointestinal tract of turkeys, one of the most promising methods to date, next-generation sequencing (NGS), was used. The analysis of the material was carried out in the Laboratory of Molecular-Genetic Studies of the Research and Production Company «BIOTROF+». The use of feed additives had a positive effect on the microflora of turkeys. The amount of useful microflora increased and the concentration of pathogenic microorganisms was suppressed.
Keywords: poultry farming, turkeys, probiotics, bacteria, gastrointestinal tract, microflora.
Acknowledgments: the study was carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research within the framework of scientific project No. 20-316-90010

Providing the country's population with safe and high-quality food products is a priority task. Poultry farming is one of the industries capable of delivering dietary meat to the shelves in a short time. In intensive production, antibiotics are used to prevent the spread of infectious diseases. As a result, the natural resistance of the gastrointestinal tract microflora of poultry decreases [1, 2]. Violation of normoenterobiocenosis leads to the emergence of dysbiotic, pathological states, disruption of digestion processes (deterioration of nutrients absorption), a decrease in productivity and an increase in the morbidity of poultry [3].

The main food for poultry are cereals rich in fiber. The problem of nutrient absorption arises, since poultry practically lack their own digestive enzymes for the breakdown of cellulose and other non-starchy polysaccharides [3]. As a result, a viscous suspension is formed in the small intestine, enveloping the feed mass, which prevents the poultry's own endogenous enzymes from obtaining the feed nutrients. This leads to a decrease in the level of their hydrolysis. In young and adult poultry, liquid, sticky droppings are observed [3—5].

The poultry experiences the greatest load in the postembryonic period of development, when it is transferred to highly nutritious feeds. During this period that it is important to provide easily digestible feed and biological additives that have a positive effect on digestive and metabolic processes [6].

Probiotics based on bacteria of the genus Bacillus can protect the body of poultry from intestinal pathogens, eliminate dysbacteriosis during antibiotic therapy and improve food digestion [7—10]. In addition to antagonistic properties against intestinal pathogens, representatives of the genus Bacillus have the ability to produce enzymes (amylase, lipase, protease, pectinase, cellulase, phytase) necessary for the successful breakdown of food, fermentation of the nutrients contained in the feed, have (phytase enzyme) a positive effect on increasing the biological availability of phos-

© Kotarev V. I., Lyadova L. V., Belousov D. A., Bolshakov V. N., 2022

phorus, increasing its deposition in the poultry's body, the breakdown of cellulose and other non-starchy polysaccharides [11—14].

The poultry's gastrointestinal tract contains a wide microbial diversity. The largest number of microorganisms is concentrated in the cecum of the poultry's intestines. The microflora of the ceca maintains the homeostasis of the macroorganism and plays an important role in the processes of food digestion [15—17].

It is relevant to study the effect of probiotic feed additives on the gastrointestinal tract microflora, the growth and development of poultry, and consequently, the increase in productivity [18, 19].

The objective of the work was to study the effect of probiotic, multifunctional feed additives (Profort and Likvafid), containing bacteria of the genus Bacillus, on the gastrointestinal tract microflora of turkeys of Hybrid Converter cross.

MATERIAL AND METHODS

The production experiment was carried out on the farm of «Krivets Ptitsa» LLC, Dobrovskiy rayon, Lipetsk region. The object of the study was turkeys of Hybrid Converter cross. There were three groups of poultry, 12 000 birds each: experimental group 1 — the feed additive Profort was included in the diet; experimental group 2 — the diet included a water-soluble probiotic additive Likvafid; group 3 — control. The use of feed additives was carried out for 60 days. The feed additive Profort was used at the rate of 1 kg per 1 ton of complete feed (PC). The probiotic Likvafid was drunk at the rate of 50 g per 1 ton of water.

At the time of slaughter (day 98), the samples of the contents of the ceca of the intestines of turkeys were taken in three groups: four replications in the experimental ones (No. 1, No. 2, No. 3, No. 4 — Profort; No. 5, No. 6, No. 7, No. 8 — Likvafid) and two replications in the control one (No. 9, No. 10).

The study of the microflora of the ceca of turkeys was carried out by one of the most promising methods to date, NGS (next-generation sequencing). The use of next-generation sequencing technologies makes it possible to carry out metagenomic studies of complex microbial communities with a large volume of read nucleotide sequences. In this case, it is possible to determine accurately the phylogenetic affiliation of microorganisms to a species.

The researches were carried out in the Laboratory of Molecular-Genetic Studies of the Research and Production Company «BIOTROF+».

The results were processed using the statistical application program Statistica 8.0 (Stat-Soft, Inc, USA).

STUDY RESULTS

In the Laboratory of Molecular-Genetic Studies of the Research and Production Company «BIOTROF+», the composition of the microflora of the digestive tract of turkeys was determined, which made it possible to assess the effect of feed additives Profort and Likvafid on the intestinal microflora.

In the normoflora composition, there were detected lactobacteria, bifidobacteria, bacilli, cellulolytics, VFA-synthesizing bacteria.

Lactobacteria, in all studied samples, were represented by the genera Lactobacillus spp., Lactococcus spp., Leuconostoc spp., belonging to the order Lactobacilliales. In the intestines of poultry, they exhibit antimicrobial and immunomodulatory activity. They perform the synthesis of antimicrobial peptides, vitamins, some essential amino acids, lactate, which is necessary for the production of volatile fatty acids by VFA-producing bacteria.

The concentration of lactobacteria in the ceca of the turkeys of the experimental groups, in the diet of which the probiotic feed additives Profort and Likvafid were used, was higher than in the control group by 2.96 % and 5.77 %, respectively (Fig. 1).

The use of the water-soluble probiotic Likvafid increased the amount of lactobacteria up to 12 % (sample No. 5), which was a good quality indicator of the microflora.

Bifidobacteria in the intestines of poultry have immunomodulatory activity. They participate in the synthesis of vitamins and some essential amino acids. The maximum content of bifidobacteria in the ceca of turkeys did not exceed 0.54 % (in sample No. 5) (Fig. 2).

At the same time, in relation to the control, the concentration of gram-positive anaerobic bacteria Bifidobacterium in the experimental groups significantly increased by 0.37 % ($p < 0.05$) in the group using Likvafid, and by 0.10 % in the group using Profort.

In the intestines of turkeys, bacilli have an antimicrobial effect against pathogenic microflora, proteolytic and enzymatic activity towards proteins and carbohydrates of feeds. The number of bacilli in all studied samples was low and did not exceed 0.35 %. The highest content of beneficial bacilli in the intestines of poultry was found in samples No. 1—0.35 % and No. 5—0.33 % (Fig. 3).

Cellulolytic bacteria play an important role in the digestion of poultry. They break down the fiber of feeds, the digestion of which causes difficulties in poultry, due to the absence of the corresponding enzymes in the body (cellulase, β-glucanase, etc.).

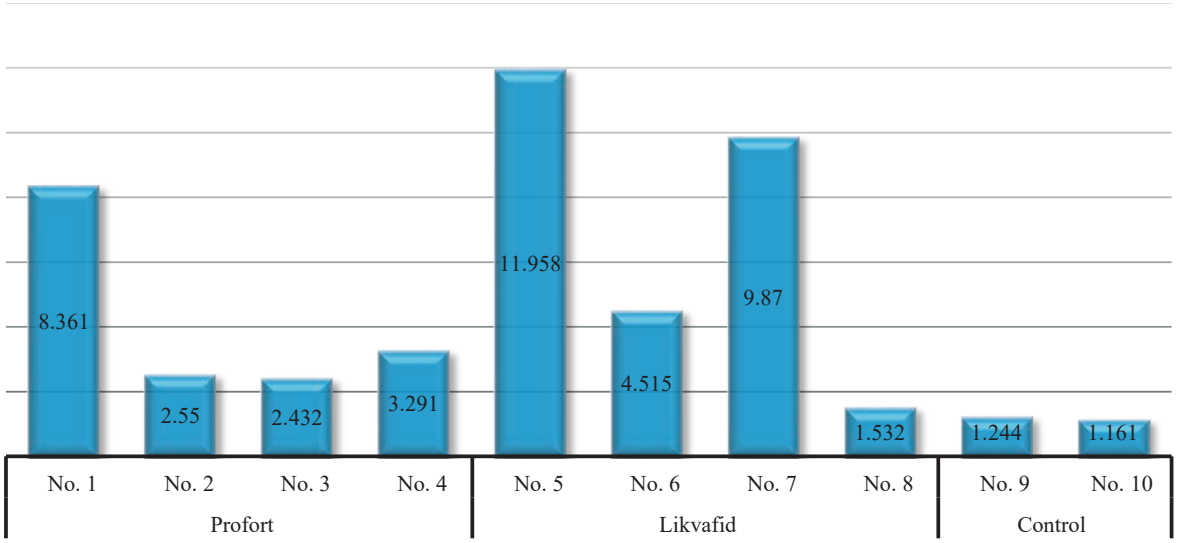


Fig. 1. Content of lactobacteria, %

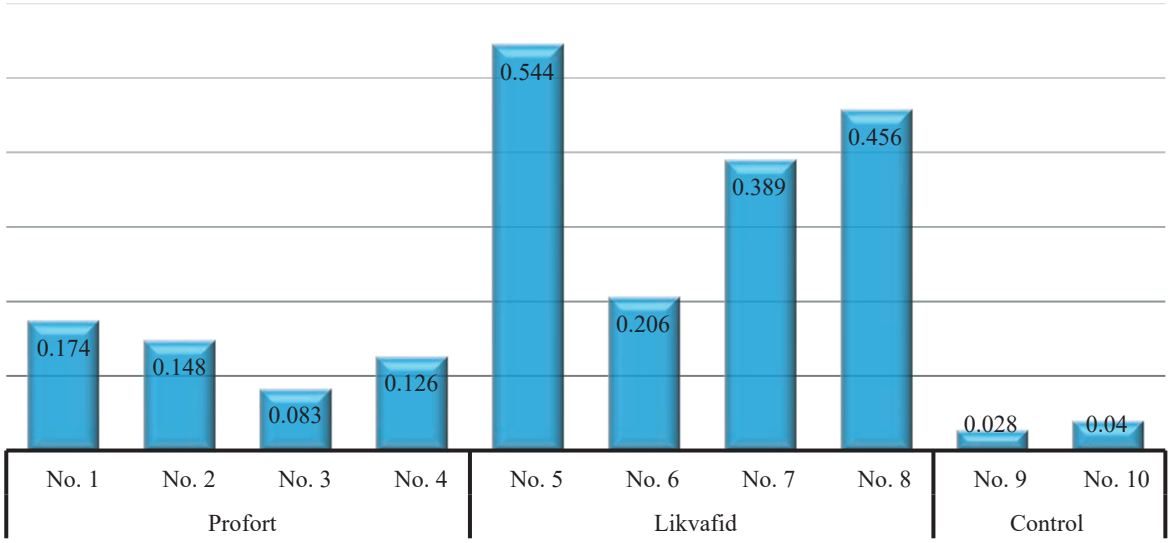


Fig. 2. Content of bifidobacteria, %

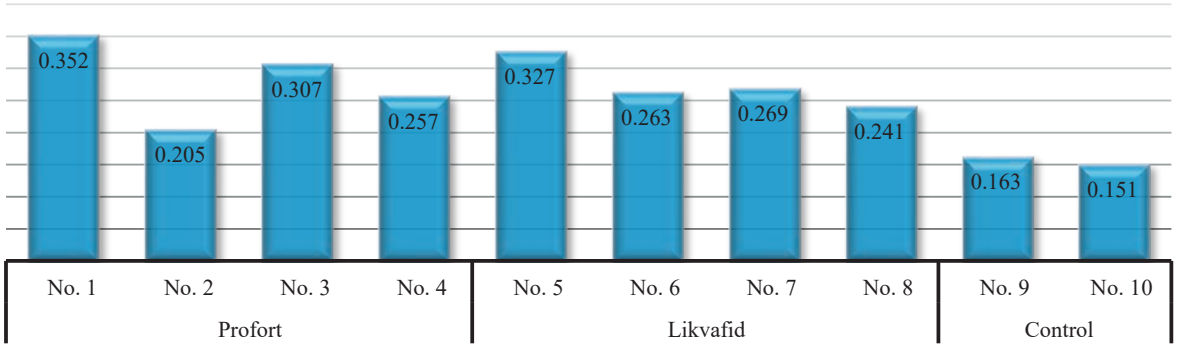
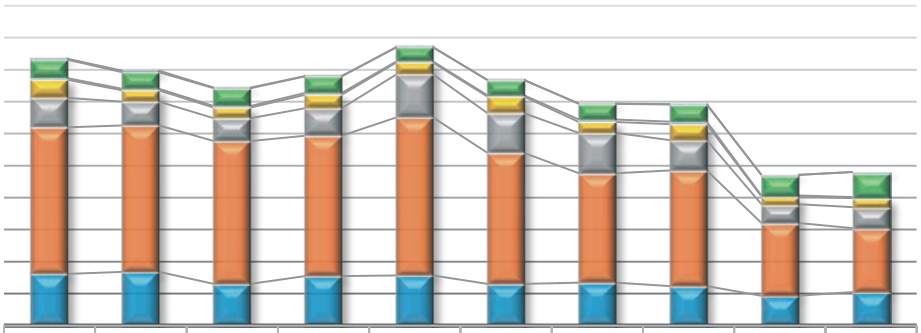


Fig. 3. Content of bacilli, %

Among the representatives of cellulolytic bacteria, the families Peptostreptococcacea, Clostridiaceae, Eubacteriaceae, Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, the genera Bacteroidales and Thermoanaerobacteriales were detected (Fig. 4). As can be seen from Fig. 4, the proportion of cellulolytic bacteria in the

studied samples of the contents of the ceca of the intestines of turkeys was presented in high quantities. In the experimental group with the use of the feed additive Profort in the diet, the average content of cellulolytics was 78.89 %, which was by 31.3 % higher than in the control samples. Profort had the greatest effect on the formation of the Bacteroidales strain, capable of fermenting starchy feed components, the average content of these bacteria was 45.42 %, which was by 2.1 times higher than their concentration in the samples of the control group. The number of cellulolytics of the Ruminococcaceae family in this group was at the level of 15.36 %, which was by 5.5 % ($p < 0.05$) higher than in the control samples. Cellulolytic bacteria of the Lachnospira family were also found in small quantities — 8.9 %, producing carboxylic and short-chain fatty acids: butyric (basic) and acetic, Flavobacterium — 0.53 %, Eubacterium — 4.18 %, capable of converting cholesterol into coprostanol, participating in the deconjugation of bile acids. Most species of eubacteria are saccharolytic, thus, capable of fermenting carbohydrates with the accumulation of short-chain fatty acids. In the test samples, the content of Clostridium decreased by 1.68 %.



	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9	No. 10
	Profort				Likvafid				Control	
Thermoanaerobacterales	0.313	0.477	0.158	0.132	0.087	0.085	0.073	0.058	0.007	0.028
Clostridiaceae	5.765	5.228	5.518	5.171	4.399	4.725	4.968	5.35	6.386	7.812
Flavobacteriaceae	0.479	0.528	0.564	0.538	0.351	0.425	0.767	0.856	0.335	0.349
Eubacteriaceae	5.669	3.465	3.282	4.296	3.709	5.19	3.407	4.934	2.417	2.793
Lachnospiriaceae	9.212	7.452	7.15	8.535	13.447	12.377	12.576	9.537	5.906	6.576
Bacteroidales	45.822	45.769	44.681	43.895	49.422	40.98	34.262	36.121	22.752	19.993
Ruminococcaceae	16.149	16.802	13.015	15.488	15.679	13.015	13.399	12.353	9.323	10.476

Fig. 4. Content of Cellulolytics, %

Drinking the probiotic Likvafid also led to an increase in the content of cellulolytics — the concentration of these bacteria was 75.64 %, which was by 28.06 % higher than in the control samples. The concentration of Lachnospiriaceae strains increased significantly — by 5.74 % ($p < 0.01$), Bacteroidales — by 18.83 % ($p < 0.05$) and Ruminococcaceae — by 3.70 % ($p < 0.05$).

There were less bacteria of the genus Clostridiaceae in the experimental samples by 2.24 % than in the control ones.

VFA-synthesizing bacteria have an important ability to ferment lactate with the formation of volatile fatty acids used by the body of poultry in metabolic processes. The content of VFA-synthesizing bacteria in the ceca of the turkeys of the experimental groups was higher than in the control group (Fig. 5).

The use of the probiotic Profort contributed to the growth of VFA-bacteria, increasing their number by 0.6 %, and the use of the water-soluble feed additive Likvafid — by 0.5 %, relative to the control.

The concentration of opportunistic pathogenic bacterial species in the studied samples was insignificant, as can be seen from Table.

CONCLUSION

The results of the analysis of the microbial community of the ceca of the intestinal tract of turkeys, using molecular and genetic methods of NGS, made it possible to establish a positive effect of the use of the probiotic feed additives Profort and Likvafid on the qualitative and quantitative composition of the ceca microflora. Thus, relative to the control, the content of normoflora representatives increased. The concentra-

tion of Lactobacteria — by 5.8 % (Likvafid group) and 3.0 % (Profort group); Celluloselytics — by 28.6 % (Likvafid) and 31.3 % (Profort); VFA-synthesizing bacteria — by 0.6 % and 0.5 %, respectively.

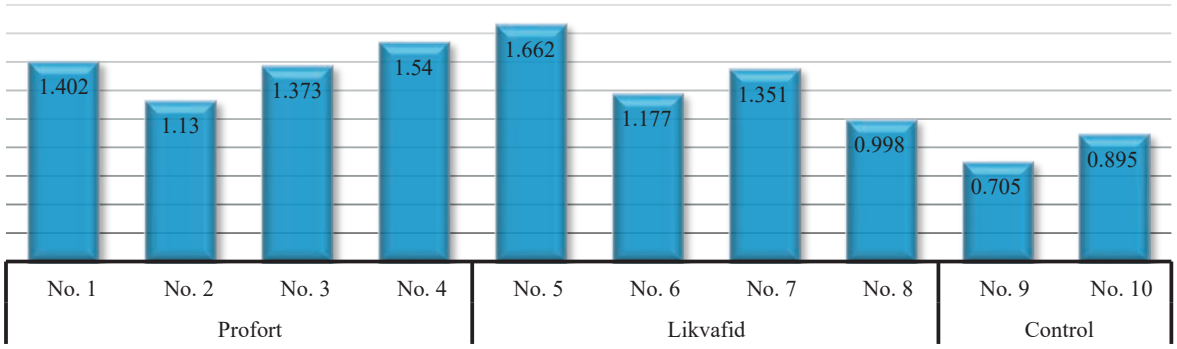


Fig. 5. Content of VFA-synthesizing bacteria, %

Table

Average number of microorganisms in the studied samples, %

Microorganisms	Profort	Likvafid	Control
Normoflora			
Ruminococci	15.36 ± 1.65*	13.61 ± 1.44*	9.90 ± 0.82
Bacteroids	45.04 ± 0.93***	40.20 ± 6.77*	21.37 ± 1.95
Lachnospira	8.09 ± 0.96	11.98 ± 1.70**	6.24 ± 0.47
Eubacteria	4,18 ± 1.09	4.31 ± 0.88	2.61 ± 0.27
Flavobacteria	0.53 ± 0.04***	0.60 ± 0.25	0.34 ± 0.01
Clostridia	5.42 ± 0.56	4.86 ± 1.27	7.10 ± 0.23
Thermoanaerobacteria	0.27 ± 0.16	0.08 ± 0.01**	0.02 ± 0.01
Sum of Cellulolytics	78.89	75.64	47.58
Veillionella	1.36 ± 0.17	0.94 ± 0.20*	1.51 ± 0.22
Lactobacteria	4.16 ± 2.82	6.97 ± 4.79	1.20 ± 0.06
Bifidobacteria	0.13 ± 0.04*	0.40 ± 0.14*	0.03 ± 0.01
Bacilli	0.28 ± 0.06**	0.27 ± 0.04***	0.16 ± 0.01
VFA-synthesizing bacteria	1.36 ± 0.17*	1.29 ± 0.28	0.80 ± 0.13
Opportunistic pathogenic microflora			
Enterococci	0.15 ± 0.008**	0.03 ± 0.005***	0.51 ± 0.090

* $p < 0.05$
** $p < 0.01$
*** $p < 0.001$

REFERENCES

1. *Bobyleva G. A.* Trends in the development of the poultry industry / G. A. Bobyleva // Ptitsa i ptitseprodukty (Poultry and poultry products). — 2014 — No. 4. —— pp. 14—17.

2. *Grozina A. A.* Composition of the gastrointestinal tract microflora in broiler chickens under the effect of a probiotic and an antibiotic / according to T-RFL–RT-PCR. Selskokhozyaystvennaya biologiya (Agricultural Biology) — 2014 — No. 6. — P. 46—58.

3. *Nozdrin G. A.* Effect of the probiotic drug «Vetom 1» on the physiological state of turkeys / G. A. Nozdrin // Theory and practice of modern agrarian science: collection of papers of the National (All-Russian) scientific conference. — Novosibirsk State Agrarian University. — 2018 — P. 422—424.

4. *Loparev N. P.* Species composition of the microflora of the digestive system of broiler turkeys in the early period of ontogenesis / N. P. Loparev, V. I. Pleshakov, N. A. Leshcheva // Vestnik Omskogo GAU (Bulletin of Omsk SAU). — No. 3 (35). — 2019 — P. 63—67.

5. *Li P.* Characterization and probiotic potency of Bacillus sp. DU-106, a highly effective producer of L-lactic acid isolated from fermented yogurt /. P Li, W. Genomic, Z. Tian, Z. Jiang, X. Liang, B. Du // Frontiers in Microbiology. 2018 J. — No.9. — pp. 2216.

6. *Pleshakova V. I.* Microbiocenosis of the gastrointestinal tract in turkeys / V. I. Pleshakova, N. A. Leshcheva, L. M. Gelyarnaya // Ptitsevodstvo (Poultry farming) — 2017 — No. 7. — P. 37—40.

7. *Feoktistova N. V.* Probiotics based on bacteria of the genus Bacillus in poultry farming / N. V. Feoktistova [et al.] // Uchenye zapiski Kazanskogo universiteta (Proceedings of Kazan University). Series: Natural Sciences. — 2017. — V. 159. — No. 1. — P. 85—107.

8. *Ushakova N. A.* New generation of probiotic drugs for feed purposes / N. A. Ushakova, R. V. Nekrasov, V. G. Pravdin, L. Z. Kravtsova, O. I. Bobrovskaya, D. S. Pavlov // Fundamentalnye issledovaniya (Fundamental researches). — 2012. — No. 1. — P. 184—192.

9. *Topuriya L. Yu.* Pharmacological aspects of the use of probiotics in broiler poultry farming / L. Yu. Topuriya, G. M. Topuriya, G. V. Grigoryeva // Orenburg: Ed. center VNIIMS, 2012. — 95. — p.15.

10. *Savustyanenko A. V.* Mechanisms of action of probiotics based on Bacillus Subtilis / A. V. Savustyanenko // Aktualnaya infektologiya (Actual Infectology). — 2016. — No. 2 (11). — P. 35—43.

11. *Pyshmantseva N.* Probiotics increase the profitability of poultry farming / N. Pyshmantseva, N. Kovekhova, V. Savosko. // Ptitsevodstvo (Poultry farming). — 2011. — No. 2. — P. 36—38.

12. *Collins M. D.* Probiocics, prebiotics, and synbiotics: Approaches for modulating the microbial ecology of the gut / M. D. Collins, G. R. Gibson // Am. J. Clin. Nutr. — 1999. — V. 69, No. 5. — P.1052—1057.

13. *De Vrese, M.* Probiotics, prebiotics, and synbiotics / *De M.* Vrese, J. Schrezenmeir // Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. — 2008. — V. 111. — P. 1—66.

14. *Blanch A.* Use of probiotics in poultry nutrition / A. Blanch, M. Rouault // Proceedings of the 10th Turkey Science and Production Conference, Chester, UK. — 2016. — pp. 73—78.

15. *Bovkun G. F.* Dynamics of the formation of intestinal microbiocenosis in young chickens / G. F. Bovkun // Ptitsevodstvo (Poultry farming). — 2017 — No. 2. P. 32—36.

16. *Georgievskiy V. I.* Physiology of agricultural animals / V. I. Georgievskiy — M.: Agropromizdat, 2009. — 511 p.

17. *Kotarev V. I.* Chemical composition of the muscle tissue of turkeys when using the probiotic additive Profort in the diet / V. I. Kotarev, L. V. Lyadova, D. A. Belousov // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2021. — No. 1. (14). — P. 27—34.

18. *Al-Thubiani, A.S.A.* Identification and characterization of a novel antimicrobial peptide compound produced by Bacillus megaterium strain isolated from oral microflora / A.S.A. Al-Thubiani, A. Fathi, M.A.S. Abourehab, M. Alarjah, M.S.A. Khan, S. B. Al-Ghamdi // Saudi Pharmaceutical Journal. — 2018J. — No.26 (8)). — pp.1089-1097.

19. *Malanicheva I. A.* Antimicrobial activity of Bacillus megaterium strains // I. A. Malanicheva, D. G. Kozlov, I. G. Sumarukova, O. V. Efremenkova, V. A. Zenkova, G. S. Kat-rukha, M. I. Reznikova, O. D. Tarasova, S. P. Sineokiĭ, // Microbiology. — 2012J. Él'-Registan. — No. 81. — pp. 178—185.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

V. I. Kotarev — Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Chief Scientific Associate;
L. V. Lyadova — Candidate of Agricultural Sciences, Principal Scientific Associate;
D. A. Belousov — Postgraduate Student, Junior Scientific Associate;
V. N. Bolshakov — Candidate of Agricultural Sciences, Chief Specialist.

The article was submitted 20.06.2022.

Научная статья
УДК 619:[636:87.7]636.592
DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.3.116

МЯСНАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ ИНДЕЕК КРОССА ХАЙБРИД КОНВЕРТЕР ПРИ ВВЕДЕНИИ В РАЦИОН ПРОБИОТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА «ЛИКВАФИД»

Вячеслав Иванович Котарев✉, Людмила Викторовна Лядова, Даниил Андреевич Белоусов

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, kotarev60@ya.ru✉

Аннотация. В статье представлены результаты исследований влияния водорастворимого пробиотического комплекса Ликвафид на мясную продуктивность индеек кросса Хайбрид Конвертер. Производственный опыт был проведен в условиях ООО «Кривец-Птица» Добровского района, Липецкой области. Выпаивание водорастворимой пробиотической добавкой Ликвафид проводили на протяжении от 1 до 60 дней жизни индеек, исходя из концентрации 50 г на 1 т воды. Еженедельно проводили взвешивание птиц и учет сохранности. Контрольный убой осуществлялся на 98 день. В результате использования водорастворимой пробиотической добавки Ликвафид, увеличивалась масса индеек. Возрастал выход продукции. Снижался падеж птицы. Улучшалось качество продукции.
Ключевые слова: птицеводство, индейки, пробиотики, живая масса, продуктивность.
Благодарности: исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-316-90010

Промышленное птицеводство в России занимает одну из ведущих позиций в сельскохозяйственном секторе. Обеспечение население страны, безопасной продукцией наивысшего качества, является приоритетным направлением. Производство мясной птицеводческой продукции в полной мере снабжает граждан нашей страны животным белком высокого класса, крайне необходимым для поддержания здоровья человека.

Одним из приоритетных направлений является индейководство. Диетические свойства и вкусовые качества мяса индеек превосходят мясо других птиц, оно более богато протеином имеет сбалансированный аминокислотный состав, в нем содержится больше витаминов.

Для усиления способности отросли индейководства конкурировать на различных рынках, необходимо производить продукцию высокого качества, обращая особое внимание на экологическую безопасность и экономическую эффективность: низкие затраты корма на единицу прироста, мясную скороспелость, высокое качество мяса и мобильность отрасли [10].

Интенсивное производство может приводить к стрессовым состояниям птицы, что сказывается на здоровье, ведет к возникновению дисбаланса в пищеварительной системе индеек, снижению резистентности организма, а следовательно — продуктивности птиц, ухудшению качества мяса [1—5, 12].

Нарушение работы пищеварительной системы является одной из основных проблем, наблюдающихся при выращивании индеек. С целью предотвращения возникновения и распространения заболеваний, борьбы с патогенными микроорганизмами используют кормовые антибиотики, подкислители и другие химические вещества [13, 14, 16].

Антибиотики наносят вред как патогенной, так и нормофлоре, увеличивают затраты на послекурсовую терапию, для восстановления нормальной жизнедеятельности организма. Также, имеют свойства задерживаться в получаемой животноводческой продукции, что уменьшает ее потребительскую безопасность. Альтернативой антибиотикотерапии является применение пробиотиков, которые стимулируют развитие полезной микрофлоры пи-

© Котарев В. И., Лядова Л. В., Белоусов Д. А., 2022

щеварительного тракта, используются в лечении и профилактике заболеваний желудочно-кишечного тракта, способствуют улучшению пищеварительных процессов, помогают адаптироваться организму птиц к небелковым азотистым веществам и рационам с высоким содержанием энергии, вследствие чего повышается эффективность усвоения питательных веществ корма, повышается резистентность и возрастает продуктивность птиц [6—9, 11, 15].

Целью наших исследований являлось изучение влияния водорастворимого пробиотического комплекса Ликвафид на мясную продуктивность индеек кросса Хайбрид Конвертер.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Производственный опыт по определениювлияния водорастворимой кормовой добавки Ликвафид на продуктивностьиндеек кросса Хайбрид Конвертер был проведен в условиях ООО «Кривец-Птица» Добровского района, Липецкой области. Были сформированы две группы по 12 000 голов: опытная и контрольная. Исследования проводились на индейках в период от 1 до 98 дней. Обе группы получали сбалансированные комбикорма одинакового состава соответствующие возрастным потребностям. Выпаивание водорастворимого пробиотического комплекса Ликвафид продолжалось на протяжении от 1 до 60 дней исходя из концентрации 50 г на 1 т воды.

Еженедельно проводилось взвешивание птиц и учет сохранности. Контрольный убой проводили на 98 день. Из каждой группы отбирали по 10 голов. Анатомно-морфологический анализ тушек проводили в лаборатории научно-исследовательского центра ФГБНУ ВНИВИПФиТ. Полученные данные были обработаны в программе Statistica v6.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При оценке мясной продуктивности птицы учитывают такие параметры как: живая масса, абсолютный, среднесуточный прирост.

Применение пробиотической водорастворимой кормовой добавки Ликвафид оказывало положительное влияние на показатели продуктивности индеек (табл. 1).

Таблица 1

Зоотехнические показатели

Возраст	Группа	
	контрольная	опытная «Ликвафид»
Абсолютный прирост массы, г, за 98 дней	12 640 ± 97,7	13 440 ± 73,83***
Абсолютный среднесуточный прирост, г	128,97	137,14
Средний расход корма на 1 голову всего, кг	31,05	29,76
Затраты корма на 1 кг прироста живой массы, кг	2,45	2,21

* $p < 0,05$
** $p < 0,01$
*** $p < 0,001$

Живая масса — это основной признак, по которому определяют количество мяса у птицы любого возраста. Прирост массы у индеек опытной группы был выше, чем у птиц контрольной группы на 6,3 %. Снижался расход корма на единицу продукции. В группе «Ликвафид» на 1 килограмм прироста живой массы затраты корма были ниже чем в контрольной на 9,8 %. Расход корма на одну голову в среднем был ниже на 4,2 %.

Применение пробиотика сказывалось на сохранности птиц. Так, в опытной группе падеж птиц был ниже, чем в контрольной на 6,7 % (табл. 2).

Для отображения мясной продуктивности птиц в едином показателе, используют индекс мясной продуктивности в котором учитывается отношение оптимальных затрат корма на килограмм привеса к фактическим затратам, живая масса перед убоем и сохранность. Индекс мясной продуктивности индеек опытной группы был выше, чем в контрольной на 25,5 %.

Важными показателями продуктивности являются — масса непотрошеной тушки (убойная масса), масса полупотрошеной тушки (масса тушки без крови, пера, у которой удалены кишечник с клоа-

кой, зоб), масса потрошеной тушки (масса тушки без крови, пера, головы, ног, крыльев до локтевого сустава, у которой удалены все внутренние органы, кроме легких и почек).

Таблица 2

Сохранность индеек

Показатели	Группа	
	контрольная	опытная «Ликвафид»
Количество голов на начало опыта	12 000	12 000
Количество голов на конец опыта	10 575	11 372
Сохранность, %	88,1	94,8
Индекс мясной продуктивности, кг	4,7	5,9

Применение в рационе индеек кросса Хайбрид Конвертер водорастворимого пробиотического комплекса Ликвафид способствовало увеличению предубойной массы на 6,3 %, вес непотрошеной тушки возрастал на 12,3 %, убойный выход на 5,2 %, масса потрошеной тушки на 8,6 %, убойный выход к потрошеной тушке был выше на 2,1 % по сравнению с контрольными образцами (табл. 3).

Таблица 3

Масса и выход тушек при разделке

Показатели		Группа	
		контрольная	опытная «Ликвафид»
Предубойная масса, г		12 690 ± 135	13 490 ± 98***
Масса непотрошеной тушки, г		11 670 ± 97,30	13 105 ± 98,75***
Убойный выход непотрошеной тушки, %		91,96	97,15
Масса потрошеной тушки, г		9010 ± 67,80	9861 ± 64,50***
Убойный выход потрошеной тушки, %		71,00	73,10
Выход тушек, голов	1-й категории	6	10
	2-й категории	4	0

*** $p < 0,001$

Для характеристики качества продукции проводили осмотр и оценку потрошеных тушек в соответствии с требованиями, предъявляемыми ГОСТ 31 473—2012.

По результатам осмотра было выявлено в контрольной группе 6 тушек 1-й категории и 4 тушки 2-й категории. В опытной группе все образцы тушек были отнесены к 1-му сорту.

Проведенная анатомическая разделка тушек, при которой были отделены грудные мышцы и мышцы окорочка, внутренние органы, показала положительное влияние пробиотика на наращивание мышечной массы у индеек и масс органов (табл. 4).

В опытной группе, масса окорочков превышала контрольные значения на 15,7 % ($p < 0,001$).

Применение пробиотического комплекса Ликвафид способствовало увеличению массы грудных мышц птиц на 18,9 % ($p < 0,001$), относительно контрольных образцов.

Масса внутренних органов индеек опытной группы была выше контрольных образцов.

Таблица 4

Анатомическая разделка тушек

Показатель	Группы	Окорочок	Грудка	Сердце	Печень	Мышечный желудок
Масса, г	Контрольная	2670 ± 47,32	3050 ± 68,70	41,3 ± 4,8	148,6 ± 8,2	171,3 ± 1,3
	Опытная группа «Ликвафид»	3089 ± 51,24***	3628 ± 54,15***	49,3 ± 1,0	171,9 ± 4,8*	177,2 ± 1,8*
Выход к живой массе, %	Контрольная	22,46	26,40	0,3	1,2	1,3
	Опытная группа «Ликвафид»	22,89	26,89	0,4	1,3	1,3
Выход к потрошеной тушке, %	Контрольная	29,63	33,85	0,5	1,6	1,9
	Опытная группа «Ликвафид»	31,32	36,79	0,5	1,7	1,8

* $p < 0,05$
*** $p < 0,001$

Так, результаты анализа показали, что масса печени индеек группы «Ликвафид» была выше, чем у контрольной птицы на 15,7 % ($p < 0,05$). Увеличивалась масса сердца, на 19,4 %, мышечного желудка на 3,4 % ($p < 0,05$). Соотношение размеров индейки и массы органов были в пределах допустимых значений. Увеличение органов не являлось патологией, а объяснялось пропорциональным увеличением относительно размеров опытной птицы.

Состав водорастворимой пробиотической добавки Ликвафид содержит бактерии рода Bacillus subtilis, Bacillus megatherium, продуцирующие пищеварительные ферменты (амилазу, липазу, протеазу, пектиназу и целлюлазу) необходимые организму для переваривания и полноценного усвоения корма. Бактерии рода Bacillus subtilis обладают высоким уровнем продуцирования фитазы, способствующей поддержанию на оптимальном уровне кальций-фосфорного соотношения.

Таким образом, применение пробиотической добавки Ликвафид улучшало усвояемость питательных веществ корма, за счет действия бактерий входящих в ее состав, что отражалось на продуктивности птицы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования позволили оценить влияние водорастворимой многофункциональной кормовой добавки Ликвафид на продуктивность индеек кросса Хайбрид Конвертер.

Увеличивался среднесуточный прирост, относительно контроля, на 6,3 %, снижались затраты корма на 1 кг прироста живой массы в среднем на 9,8 %, повышалась сохранность на 6,7 %. Индекс мясной продуктивности был выше чем в контрольной группе на 25,5 %.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Котарев В. И.* Влияние мультифункциональной кормовой добавки Профорт на обменные процессы в организме индеек кросса Хайбрид конвертер / В. И. Котарев, Л. В. Лядова, Д. А. Белоусов // Ученые записки учреждения образования витебская ордена знак почета государственная академия ветеринарной медицины. — 2020. — Т. 56. — № 4. — С. 105—109.

2. *Котарев В. И.* Оценка приростов молодняка кур яичного направления и их сохранность при использовании в рационах пробиотической добавки / В. И. Котарев, Л. И. Денисенко // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2020. — № 2 (11). — С. 103—108.

3. *Котарев В. И.* Перспективы использования кормовой добавки Профорт в индейководстве / В. И. Котарев, Д. А. Белоусов // Мировое и российское птицеводство: состояние, динамика развития, инновационные перспективы: материалы XX Международной конференции. — Сергеев Посад, 2020. — С. 250—252.

4. *Котарев В. И.* Влияние кормовой добавки Профорт на мясную продуктивность индеек кросса Хайбрид Конвертер / В. И. Котарев, Л. В. Лядова, Д. А. Белоусов // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. — 2021. — № 1. (53). — С. 193—197.

5. *Котарев В. И.* Влияние пробиотической добавки «Профорт» на показатели развития внутренних органов молодняка кур-несушек / В. И. Котарев, Л. И. Денисенко // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины». — 2020. — Выпуск 4. — С. 35—38.

6. *Лаптев Г.* Кормление животных и микрофлора / Г. Лаптев // Животноводство России 2010. — № 2. — С. 56—57.

7. *Иванова Н. Н.* Продуктивность цыплят-бройлеров при включении в рацион комплекса дополнительного питания / Н. Иванова // Вестник КРАСГАУ 2020. — № 6. — С. 223—228.

8. *Сидорова А. Л.* Гематологические особенности мясных индюшат / А. Л. Сидорова, М. Г. Ткаченко // Птицеводство. — 2014. — № 06. — С. 40—42.

9. *Тараканов Б. В.* Механизмы действия пробиотиков на микрофлору пищеварительного тракта и организм животных / Б. В. Тараканов // Ветеринария. — 2000. — № 1. — С. 23—24.

10. *Феоктистова Н. В.* Биопрепараты микробного происхождения в птицеводстве / Н. В. Феоктистова, А. М. Марданова, М. Т. Лутфуллин, Л. М. Богомольная, М. Р. Шарипова // Ученые записки Казанского университета. Серия: Естественные науки. — 2018. — Т. 160. — № 3. — С. 395—418.

11. *Швыдков А.* Обоснование применения пробиотиков в бройлерном птицеводстве / А. Швдков, В. Чебаков [и др.]. // Птицеводство. — 2012. — № 12. — С. 44—48.

12. *Apajalahti J.* Does the composition of intestinal microbiota determine or reflect feed conversion efficiency? / J. Apajalahti, T. Rinttilä, A. Kettunen, Proceedings of the 23rd Australian Poultry Science Symposium, Sydney. — 2012. — pp. 32—39.

13. *Bansal G. R.* Effect of Probiotic Supplementation on the Performance of Broilers / G. R. Bansal, V. P. Singh, N. Sachan // Asian Journal of Animal Sciences. — 2011. — № .4. P. 277—284.

14. *Blanch A.* Use of probiotics in poultry nutrition / A. Blanch, M. Rouault // Proceedings of the 10th Turkey Science and Production Conference, Chester, UK. — 2016. — pp. 73—78.

15. *Collins M. D.* Probiocics, prebiotics, and synbiotics: Approaches for modulatingthe microbial ecology of the gut / M. D. Collins, G. R. Gibson // Am. J. Clin. Nutr. — 1999. — V. 69, № 5. — P.1052—1057.

16. *Gupta V.* Probiotics / V. Gupta, R. Garg // Indian J. Med. Microbiol. — 2009. — V. 27, № 3. — P. 202—209.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

В. И. Котарев — доктор сельскохозяйственных наук, профессор, главный научный сотрудник;

Л. В. Лядова — кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник;

Д. А. Белоусов — аспирант, младший научный сотрудник сектора фармакологических и фармацевтических исследований лекарственных средств НИЦ.

Статья поступила в редакцию 21.06.2022 г.

Original article
UDC 619:[636:87.7]636.592

MEAT PRODUCTIVITY OF TURKEYS OF HYBRID CONVERTER CROSS WHEN INTRODUCING THE PROBIOTIC COMPLEX «LIKVAFID» TO THE DIET

Vyacheslav Ivanovich Kotarev✉, Lyudmila Viktorovna Lyadova, Daniil Andreevich Belousov

All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia, kotarev60@ya.ru✉

Abstract. The article presents the results of studies of the effect of the water-soluble probiotic complex Likvafid on the meat productivity of turkeys of Hybrid Converter cross. The production experiment was carried out in the conditions of Krivets-Ptitsa LLC, Dobrovskiy rayon, Lipetsk region. Feeding with the water-soluble probiotic additive Likvafid was carried out for 1 to 60 days of life of turkeys, based on a concentration of 50 g per 1 ton of water. The poultry were weighed weekly and their livability was recorded. Control slaughter was carried out on day 98. As a result of the use of the water-soluble probiotic additive Likvafid, the mass of turkeys increased. Output increased. Poultry mortality decreased. Product quality improved.
Keywords: poultry farming, turkeys, probiotics, live weight, productivity.
Acknowledgments: the study was carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research within the framework of scientific project No. 20-316-90010

Industrial poultry farming in Russia occupies one of the leading positions in the agricultural sector. Providing the population of the country with safe products of the highest quality is a priority. The production of poultry meat products fully supplies the citizens of our country with high-class animal protein, which is essential for maintaining human health.

One of the priority areas is turkey farming. The dietary properties and taste of turkey meat are superior to those of other poultry, it is richer in protein, has a balanced amino acid composition and contains more vitamins.

To enhance the ability of the turkey industry to compete in various markets, it is necessary to produce high quality products, paying special attention to environmental safety and economic efficacy: low feed costs per unit of growth, meat maturing rate, high meat quality and industry mobility [10]

Intensive production can lead to stressful states of the poultry, which affects health, leads to an imbalance in the digestive system of turkeys, a decrease in the body's resistance, and consequently, the productivity of poultry, and a deterioration in meat quality [1—5, 12].

Disruption of the digestive system is one of the main problems observed in growing turkeys. In order to prevent the occurrence and spread of diseases, to combat pathogenic microorganisms, feed antibiotics, acidifiers and other chemicals are used [13, 14, 16].

Antibiotics harm both pathogenic and normoflora, increase the cost of post-cycle therapy to restore the normal functioning of the body. They also tend to linger in the resulting livestock products, which reduces its consumer safety. An alternative to antibiotic therapy is the use of probiotics, which stimulate the development of beneficial microflora of the digestive tract, and are used in the treatment and prevention of diseases of the gastrointestinal tract, help to improve digestive processes, help the poultry body to adapt to non-protein nitrogenous substances and diets with a high energy content, as a result of which the absorption efficacy of feed nutrients increases, resistance and the productivity of poultry also increase [6—9, 11, 15].

The objective of our research was to study the effect of the water-soluble probiotic complex Likvafid on the meat productivity of turkeys of Hybrid Converter cross.

MATERIAL AND METHODS

A production experiment to determine the effect of the water-soluble feed additive Likvafid on the productivity of turkeys of Hybrid Converter cross was carried out in the conditions of Krivets-Ptitsa LLC, Dobrovs-

© Kotarev V. I., Lyadova L. V., Belousov D. A., 2022

kiy rayon, Lipetsk region. Two groups of 12 000 birds were formed: experimental and control. Studies were conducted on turkeys in the period from 1 to 98 days. Both groups received balanced feed of the same composition corresponding to age requirements. Drinking of the water-soluble probiotic complex Likvafid lasted for 1 to 60 days based on the concentration of 50 g per 1 ton of water.

Birds were weighed weekly and the records of livability were carried out. Control slaughter was performed on day 98. Ten animals were selected from each group. Anatomical and morphological analysis of carcasses was carried out in the laboratory of the Research Center of FSBSI «ARVRIPP&T».

The obtained data were processed in the Statistica v6 program.

STUDY RESULTS

When assessing the meat productivity of poultry, such parameters as live weight, absolute, average daily weight gain are taken into account.

The use of the probiotic water-soluble feed additive Likvafid had a positive effect on the productivity of turkeys (Table 1).

Table 1

Zootechnical indicators

Age	Group	
	control	experimental «Likvafid»
Absolute weight gain, g, for 98 days	12 640 ± 97.7	13 440 ± 73.83***
Absolute average daily weight gain, g	128.97	137.14
Average feed consumption per 1 bird in total, kg	31.05	29.76
Feed costs per 1 kg of live weight gain, kg	2.45	2.21

* $p < 0.05$
** $p < 0.01$
*** $p < 0.001$

Live weight is the main feature by which the amount of meat in poultry of any age is determined. The weight gain in the turkeys of the experimental group was higher than in the poultry of the control group by 6.3 %.

Feed consumption per unit of production reduced. In the Likvafid group, per 1 kg of live weight gain, feed costs were by 9.8 % lower than in the control group. Feed consumption per bird was on average by 4.2 % lower.

The use of probiotics affected the livability of poultry. Thus, in the experimental group, the mortality of poultry was lower than in the control group by 6.7 % (Table 2).

Table 2

Livability of turkeys

Indicators	Group	
	control	experimental «Likvafid»
Number of poultry at the experiment onset	12 000	12 000
Number of poultry at the end of the experiment	10 575	11 372
Livability, %	88.1	94.8
Meat productivity index, kg	4.7	5.9

To display the meat productivity of poultry in a single indicator, the meat productivity index is used, which takes into account the ratio of optimal feed costs per kilogram of weight gain to actual costs, live weight before slaughter and livability. The meat productivity index of turkeys in the experimental group was higher than in the control group by 25.5 %.

Important indicators of productivity are the weight of the uneviscerated carcass (slaughter weight), the weight of the semieviscerated carcass (the weight of the carcass without blood, feather, the intestines with the cloaca and the goiter have been removed from it), the weight of the eviscerated carcass (the weight of the carcass without blood, feather, head, legs, wings to the elbow joint, in which all internal organs were removed, except for the lungs and kidneys).

The use of the water-soluble probiotic complex Likvafid in the diet of turkeys of Hybrid Converter contributed to an increase in the pre-slaughter weight by 6.3 %, the weight of the uneviscerated carcass increased by 12.3 %, the slaughter yield — by 5.2 %, the weight of the eviscerated carcass — by 8.6 %, the slaughter yield to the eviscerated carcass was higher by 2.1 %, compared to the control samples (Table 3).

Table 3

Weight and yield of carcasses during cutting

Indicators		Group	
		control	experimental «Likvafid»
Preslaughter weight, g		12 690 ± 135	13 490 ± 98***
Weight of uneviscerated carcass, g		11 670 ± 97.30	13 105 ± 98.75***
Slaughter yield of uneviscerated carcass, %		91.96	97.15
Weight of eviscerated carcass, g		9010 ± 67.80	9861 ± 64.50***
Slaughter yield of eviscerated carcass, %		71.00	73.10
Yield of carcasses, birds	1st category	6	10
	2nd category	4	0

*** $p < 0.001$

To characterize the quality of products, the inspection and assessment of eviscerated carcasses was carried out in accordance with the requirements of GOST 31 473—2012.

According to the results of the inspection, 6 carcasses of the 1st category and 4 carcasses of the 2nd category were found in the control group. In the experimental group, all samples of carcasses were assigned to the 1st quality grade. The anatomical cutting of carcasses, in which the pectoral and leg muscles, and internal organs were separated, showed a positive effect of the probiotic on building muscle mass in turkeys and organ masses (Table 4).

In the experimental group, the weight of the legs exceeded the control values by 15.7 % ($p < 0.001$).

The use of the probiotic complex Likvafid contributed to an increase in the weight of the pectoral muscles of poultry by 18.9 % ($p < 0.001$), relative to the control samples.

The mass of the internal organs of the turkeys of the experimental group was higher than the control samples.

Thus, the results of the analysis showed that the weight of the liver of turkeys of the Likvafid group was higher than that of the control poultry by 15.7 % ($p < 0.05$).

The mass of the heart increased by 19.4 %, gizzard stomach — by 3.4 % ($p < 0.05$). The ratio of turkey size and organ mass was within acceptable limits. The increase in organs was not a pathology, but was explained by a proportional increase in relation to the size of the experimental poultry.

The composition of the water-soluble probiotic additive Likvafid contains bacteria of the genus Bacillus subtilis, Bacillus megatherium, producing digestive enzymes (amylase, lipase, protease, pectinase and cellulase) necessary for the body to digest and fully assimilate feed.

Bacteria of the genus Bacillus subtilis have a high level of phytase production, which contributes to maintaining the calcium-phosphorus ratio at an optimal level.

Thus, the use of the probiotic additive Likvafid improved the digestibility of feed nutrients due to the action of the bacteria included in its composition, which was reflected in the productivity of the poultry.

Table 4

Anatomical cutting of carcasses

Indicator	Groups	Turkey leg	Breast	Heart	Liver	Gizzard stomach
Weight, g	Control	2670 ± 47.32	3050 ± 68.70	41.3 ± 4.8	148.6 ± 8.2	171.3 ± 1.3
	Experimental group «Likvafid»	3089 ± 51.24***	3628 ± 54.15***	49.3 ± 1.0	171.9 ± 4.8*	177.2 ± 1.8*
Yield to live weight, %	Control	22.46	26.40	0.3	1.2	1.3
	Experimental group «Likvafid»	22.89	26.89	0.4	1.3	1.3
Yield to eviscerated carcass, %	Control	29.63	33.85	0.5	1.6	1.9
	Experimental group «Likvafid»	31.32	36.79	0.5	1.7	1.8

* $p < 0.05$
*** $p < 0.001$

CONCLUSION

The conducted studies allowed us to assess the effect of the water-soluble multifunctional feed additive Likvafid on the productivity of turkeys of Hybrid Converter cross.

The average daily weight gain increased by 6.3 % relative to the control, the feed costs per 1 kg of live weight gain decreased by an average of 9.8 %, and the livability increased by 6.7 %. The index of meat productivity was higher than in the control group by 25.5 %.

The study was carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research within the framework of scientific project No. 20—316—90 010.

REFERENCES

1. *Kotarev V. I.* Effect of the multifunctional feed additive Profort on metabolic processes in the body of turkeys of Hybrid Converter cross/ V. I. Kotarev, L. V. Lyadova, D. A. Belousov // Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya vitebskaya ordena znak pocheta gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsiny (Transactions of Vitebsk Educational Institution Order Badge of Honor State Academy of Veterinary Medicine). — 2020. — V. 56. — No. 4. — P. 105—109.

2. *Kotarev V. I.* Weight gain estimation of chickens of laying hens and their livability when using probiotic additive in rations / V. I. Kotarev, L. I. Denisenko // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2020. — No. 2 (11). — P. 103—108.

3. *Kotarev V. I.* Prospects for the use of the feed additive Profort in turkey farming / V. I. Kotarev, D. A. Belousov // World and Russian poultry farming: state, development dynamics, innovative prospects: materials of the XX International Conference. — Sergeev Posad, 2020. — P. 250—252.

4. *Kotarev V. I.* Effect of the feed additive Profort on the meat productivity of turkeys of Hybrid Converter cross / V. I. Kotarev, L. V. Lyadova, D. A. Belousov // Vestnik Ulyanovskoy gosudarstvennoy selskokhozyaystvennoy akademii (Bulletin of Ulyanovsk State Agricultural Academy). — 2021. — No. 1. (53). — P. 193—197.

5. *Kotarev V. I.* Effect of the probiotic additive «Profort» on the development of the internal organs of young laying hens / V. I. Kotarev, L. I. Denisenko // Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya vitebskaya ordena znak pocheta gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsiny (Transactions of Vitebsk Educational Institution Order Badge of Honor State Academy of Veterinary Medicine). — 2020. — Issue 4. — P. 35—38.

6. *Laptev G.* Feeding animals and microflora / G. Laptev // Zhivotnovodstvo Rossii (Animal husbandry of Russia). 2010. — No. 2. — P. 56—57.

7. *Ivanova N. N.* Productivity of broiler chickens when including an additional nutrition complex in the diet / N. Ivanova // Vestnik KRASGAU (Bulletin of KRASSAU). 2020. — No. 6. — P. 223—228.

8. *Sidorova A. L.* Hematological features of meat turkeys / A. L. Sidorova, M. G. Tkachenko // Ptitsevodstvo (Poultry farming). — 2014. — No. 06. — P. 40—42.

9. *Tarakanov B. V.* Mechanisms of action of probiotics on the microflora of the digestive tract and animal organisms / B. V. Tarakanov // Veterinariya (Veterinary medicine). — 2000. — No. 1. — P. 23—24.

10. *Feoktistova N. V.* Biological products of microbial origin in poultry farming / N. V. Feoktistova, A. M. Mardanova, M. T. Lutfullin, L. M. Bogomolnaya, M. R. Sharipova // Uchenye zapiski Kazanskogo universiteta (Transactions of Kazan University). Series: Natural Sciences. — 2018. — V. 160. — No. 3. — P. 395—418.

11. *Shvydkov A.* Rationale for the use of probiotics in broiler poultry farming / A. Shvydkov, V. Chebakov [et al.]. // Ptitsevodstvo (Poultry farming). — 2012. — No. 12. — P. 44—48.

12. *Apajalahti J.* Does the composition of intestinal microbiota determine or reflect feed conversion efficiency? / J. Apajalahti, T. Rinttilä, A. Kettunen, Proceedings of the 23rd Australian Poultry Science Symposium, Sydney. — 2012. — pp. 32—39.

13. *Bansal G. R.* Effect of Probiotic Supplementation on the Performance of Broilers / G. R. Bansal, V. P. Singh, N. Sachan // Asian Journal of Animal Sciences. — 2011. — No.4. P. 277—284.

14. *Blanch A.* Use of probiotics in poultry nutrition / A. Blanch, M. Rouault // Proceedings of the 10th Turkey Science and Production Conference, Chester, UK. — 2016. — pp. 73—78.

15. *Collins M. D.* Probiotics, prebiotics, and synbiotics: Approaches for modulating the microbial ecology of the gut / M. D. Collins, G. R. Gibson // Am. J. Clin. Nutr. — 1999. — V. 69, No. 5. — P.1052—1057.

16. *Gupta V.* Probiotics / V. Gupta, R. Garg // *Indian J.* Med. Microbiol. — 2009. — V. 27, No. 3. — P. 202—209.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

V. I. Kotarev — Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Chief Scientific Associate;

L. V. Lyadova — Candidate of Agricultural Sciences, Principal Scientific Associate;

D. A. Belousov — Postgraduate Student, Junior Scientific Associate of the Sector of Pharmacological and Pharmaceutical Studies of Medicines of the Research Center.

The article was submitted 21.06.2022.

Научная статья
УДК 619:612.438:639.215.2
DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.3.126

КЛЕТОЧНЫЙ ПУЛ ТИМУСА КАРПА ОБЫКНОВЕННОГО НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЦЕЛЛОБАКТЕРИНА-Т

Виктория Вячеславовна Жукова*✉, Евгений Владимирович Михайлов*, Валерия Сергеевна Болотова*, Юлия Владимировна Шапошникова, Борис Викторович Шабунин***

**Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия*
***Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I, Воронеж, Россия, jviktoria_1995@mail.ru✉*

Аннотация. В данной статье приведено описание клеточного состава тимуса у карпа обыкновенного *(Cyprinuscarpio)* в возрасте трех лет на фоне применения пробиотического препарата Целлобактерин-Т, имеющего в своем составе *Bacillus subtilitis*. Показатели опытной группы демонстрировали снижение интенсивности воспалительного процесса, выявленного при фоновом исследовании, что выражалось снижением процентного соотношения моноцитов, нейтрофилов, увеличением лимфоцитов.
В ходе опыта изготавливали мазки-отпечатки тимуса, которые окрашивали по Паппенгейму. Цитоз микропрепаратов наблюдали от среднего до высокого, фон базофильный, обнаружены разрушенные эритроциты, вследствие гемодилюции. Большинство клеток при окрашивании по Паппенгейму идентичные таковым клеткам у высших позвоночных (лимфоциты, макрофаги, эпителиальные клетки и др.). Часть клеток (нейтрофилы, моноциты и др.) имеют свои цитоморфологические особенности. Преобладающей группой клеток являлись малые лимфоциты. Бластные формы лимфоцитов наблюдали в единичном количестве. При применении Целлобактерина-Т в опытной группе показатели моноцитов, нейтрофилов гораздо ниже, чем в контрольной: D14 в 1,9 раз, D28 в 1,7 раз, D42 в 1,3 раза. Количество лимфоцитов близко к физиологической норме: D14—68,6 %, D28—80,7 %, D42—79,4 %, что свидетельствует о снижении воспалительной реакции.
Ключевые слова: тимус, цитология, карп обыкновенный, лимфоциты, миелоциты, клетки Мотта

Болезни рыб могут наносить большой ущерб рыбоводству, поэтому для успешного разведения рыбы, в частности карпа обыкновенного, получения высокой продуктивности водоемов важно знать и уметь диагностировать наиболее распространенные заболевания рыб, эффективно осуществлять профилактические мероприятия. В одних случаях болезнь вызывается возбудителем, попадающим в организм рыбы, в других рыба заболевает при недостатке или, наоборот, избытке некоторых растворенных в воде веществ, резких колебаниях температуры воды, механических повреждений, а также недостаточном или неполноценном питании. Поэтому важно изучение жизненно важных систем органов рыб для дальнейшей их коррекции в условиях антропогенеза [1].

Органы или ткани иммунной системы у костистых рыб включают тимус, головную почку, селезенку и основные лимфоидные ткани, связанные со слизистой оболочкой [2]. Иммунная система слизистой оболочки костистых рыб представляет собой лимфоидную ткань кожи, кишечника, жабер, носоглотки. Она является основной лимфоидной структурой в организме и играет решающую роль в реакции на инфекцию [3]. Тимус у пресноводных телеостов был первым органом, который стал лимфоидным [4]. Он является первичным лимфоидным органом, в котором лимфоидные клетки–

© Жукова В. В., Михайлов Е. В., Болотова В. С., Шапошникова Ю. В., Шабунин Б. В., 2022

предшественники, полученные из костного мозга, при постоянной поддержке стромальных клеток тимуса развиваются в функционально компетентные Т-клетки [5]. Стромальные клетки тимуса у костистых рыб представлены ограничивающими эпителиальными клетками, расположенными в субкапсулярной, периваскулярной и перитрабекулярной зонах; ретикулярными эпителиальными клетками, расположенными в медуллярной и кортикальной зоне; кистозными клетками, расположенными в медуллярной зоне; тимическими клетками, расположенными в кортико-медуллярной границе и тельцами Гассаля [6]. Так же к стромальным клеткам относят различные подтипы фибробластов, дендритных клеток [7]. Другими клеточными компонентами тимуса являются макрофаги, миоидные и тучные клетки [6].

Ткань вилочковой железы плотно заполнена лимфоидными клетками, которые содержат характерно глубоко окрашенные ядра и скудную цитоплазму. Трабекулы могут состоять из тяжей эпителиальных клеток, капилляров или фиброцитов. Кортикальные и медуллярные эпителиальные клетки образуют сеть со своими цитоплазматическими отростками, которые увеличивают площадь взаимодействия с тимоцитами и поддерживают движение лимфоидных клеток [6]. После процесса отбора и дифференцировки Т-лимфоциты покидают тимус и мигрируют на периферию, чтобы выполнять свою роль в иммунном ответе организма [9].

У млекопитающих тимус цитологически представлен многочисленными клетками лимфоидного ряда, помимо этого в цитограмме можно обнаружить эпителиоретикулярные клетки, за счет гемопоэтических факторов которых происходит дифференцировка лимфоцитов. Эти клетки имеют крупное овальное или округлое базофильное ядро с 2—3 ядрышками, цитоплазма вытянутая, с отростками, может быть визуализирована зона просветления (комплекс Гольджи). В микропрепаратах тимуса так же можно обнаружить единичные нейтрофилы, макрофаги, тучные клетки (до 3—5 %) [10].

У млекопитающих было продемонстрировано, что различные патологические состояния, такие как, инфекционные заболевания, могут влиять на тимус, нарушая его архитектуру и функции и оказывая негативное влияние на продолжающийся иммунный ответ [11].

Целлобактерин-Т совмещает в себе функции двух кормовых добавок — кормового фермента и пробиотика. Бактерии, входящие в состав Целлобактерин®-Т (*Bacillus subtilitis*) обладают ярко выраженным пробиотическим эффектом, подавляют развитие патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, что обеспечивает поддержание баланса микрофлоры ЖКТ в норме. Ферментный комплекс бактериальных целлюлаз способствует более полному расщеплению структурной клетчатки (целлюлозы, гемицеллюлозы), обеспечивая более полное высвобождение питательных веществ корма.

Ранее продемонстрированы исследования о благоприятном влиянии *Bacillus subtilitis* у бройлеров, в частности отмечены высокие показатели выживаемости, прироста массы тела, уменьшение количества кишечных сальмонелл [18]. У свиней, которых кормили *Bacillu ssubtilis*, было большее соотношение прироста к корму, было повышено общее количество лейкоцитов в периферической крови [19].

Учитывая большую роль тимуса в иммунных процессах, было проведено множество исследований данного органа. О тимусе у рыб имеются публикации, описывающие гистологические, иммуногистохимические исследования, экспрессионный анализ. Тем не менее, при анализе доступной нам литературы нами были обнаружены достаточно скудные данные о цитологическом исследовании, описывающем морфологию клеток.

В связи с этим, изучение клеточного пула тимуса рыб позволит более детально изучить физиологию и функционирование иммунной системы гидробионтов.

Цель и задачи исследования. Целью исследования являлось оценить изменения клеточного состава клеток паренхимы тимуса *Cyprinus carpio* на фоне применения Целлобактерина-Т.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Опыт был проведен в специализированном рыбоводческом хозяйстве Воронежской области на карпах обыкновенных (*Cyprinus carpio*). Лабораторные исследования проведены на базе Научно-исследовательского центра и отдела экспериментальной фармакологии ФГБНУ «ВНИВИПФиТ». Для опыта были подобраны особи годовалого возраста весом 250—300 грамм. При фоновом исследовании (D0) от рыб (n = 5) для цитологического исследования был отобран тимус. В последующем гидробионты были разделены на две группы, опытный и контрольный пруд. Карпы контрольного пруда (n = 8000) получали основной рацион,

а рыба содержащиеся в опытном пруду (n = 8000) к основному рациону получала пробиотический препарат «Целлобактерин-Т» в дозировке 2 кг/т корма в течение 30 дней. Затем при контрольном облове от рыб (n = 8) из опытного и контрольного пруда (n = 8) тимус для цитологического исследования отбирали через 14 дней (D14) после начала применения препарата, через 28 дней (D28) и через 42 дня (D42) после начала применения препарата. Данные препараты окрашивались по Паппенгейму: 3 минуты фиксация в фиксаторе-красителе по Май-Грюнвальду, затем на 40 минут стекла погружали в раствор азур-эозин по Романовскому, после чего заключали в полистирол для дальнейшего исследования. Цитологическое исследование проводили с помощью микроскопов марки Hospitex Diagnostics. Для получения фотографий использовалась встроенная камера с разрешением 5 Мпикс. Процентное соотношение клеток рассчитывали исходя из 1000 насчитанных клеток. Статистическая обработка результатов проведена с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel. Достоверность оценивали методом парных сравнений с использованием критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При цитологическом исследовании мазков–отпечатков тимуса (табл. 1) наблюдали цитоз от среднего до высокого, фон базофильный, разрушенные эритроциты, вследствие гемоделюции.

Таблица

Процентное соотношение гемопоэтических клеток в тимусе карпа обыкновенного

Вид клеток	Фоновое исследование (D0)	
Лимфоциты	66,7 ± 0,04	
Нейтрофилы	10,3 ± 0,23	
Моноциты	20,5 ± 0,02	
Клетки Мотта	2,6 ± 0,16	
Вид клеток	Контроль, %	Опыт, %
Через 14 дней после начала применения препарата		
Лимфоциты	62,5 ± 0,3	68,6 ± 0,57
Нейтрофилы	20,8 ± 0,1	10,7 ± 0,19*
Моноциты	15,6 ± 0,41	20,9 ± 0,02
Клетки Мотта	1,3 ± ,02	1,4 ± 0,45
Через 28 дней после начала применения препарата		
Лимфоциты	61,8 ± 0,34	80,7 ± 0,64*
Нейтрофилы	27,6 ± 0,91	16,2 ± 0,24
Моноциты	9,3 ± 0,5	2,4 ± 0,19
Клетки Мотта	1,4 ± 0,9	1,4 ± 0,47
Через 42 дня после начала применения препарата (через 12 дней после отмены препарата)		
Лимфоциты	69,06 ± 0,04	79,4 ± 0,08*
Нейтрофилы	21,0 ± 0,67	15,9 ± 0,42
Моноциты	5,7 ± 0,01	3,2 ± 0,17
Клетки Мотта	1,1 ± 0,5	1,6 ± 0,45

*$p < 0,05$ по сравнению с группой контроля

Через 2 недели после применения Целлобактерина-Т в контрольной группе наблюдается увеличение процентного соотношения нейтрофилов (рис. 2), данных клеток на всем протяжении в контрольной группе больше в 2 раза, чем при фоновом исследовании: D14 в 2,02 раза, D28 в 2,7 раз, D42 в 2,04 раза. В опытной группе менее выражена воспалительная реакция: на 14 день соотношение нейтрофилов в контрольной и опытной группе не имеют существенных отличий, на 28 день данных клеток больше в контрольной группе на 57,3 %, на 42 день — на 54,4 %.

В ходе проведения эксперимента установлено снижение количества моноцитов (рис. 3) в обеих группах, в опытной группе это снижение более выражено: на 14 день после начала применения препарата ниже, чем в фоновом исследовании на 20,9 %, на 28 день — на 2,4 %, на 42 день — на 3,2 %. В контрольной на 14 день соотношение ниже на 15,6 %, на 28 день — на 9,3 %, на 42 день — на 5,7 %, чем при фоновом исследовании. Реактивные макрофаги с фагоцитозом клеток, межклеточного вещества встречались крайне редко (рис. 4).

Процентное соотношение лимфоцитов в контрольной группе не имело существенных изменений. На протяжении всего исследование оно было в пределах 10 % относительно фонового исследования. В опытной группе мы наблюдали увеличение лимфоцитов на 14 день на 2,8 %, на 28 день — на 21 %, на 42 день — на 19 %. В основном были представлены малые лимфоциты (диаметр клеток меньше диаметра эритроцита). Клетки у карпа обыкновенного имели вид по структуре сходный с лимфоцитами высших позвоночных животных: форма клеток округлая, высокое ядерно-цитоплазматическое соотношение, скудное количество однородной светло-базофильной цитоплазмы, ядра округлые, с грубым гиперхромным хроматином (рис. 1). Реактивных лимфоцитов у большинства рыб не наблюдалось или были в единичном количестве.

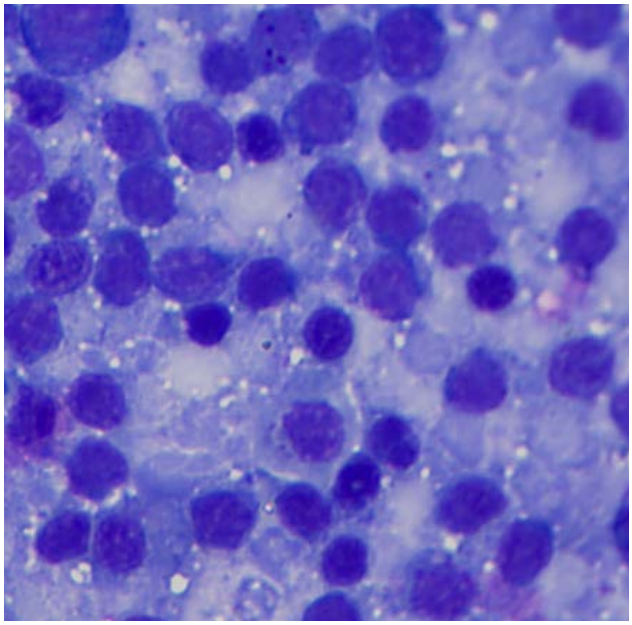
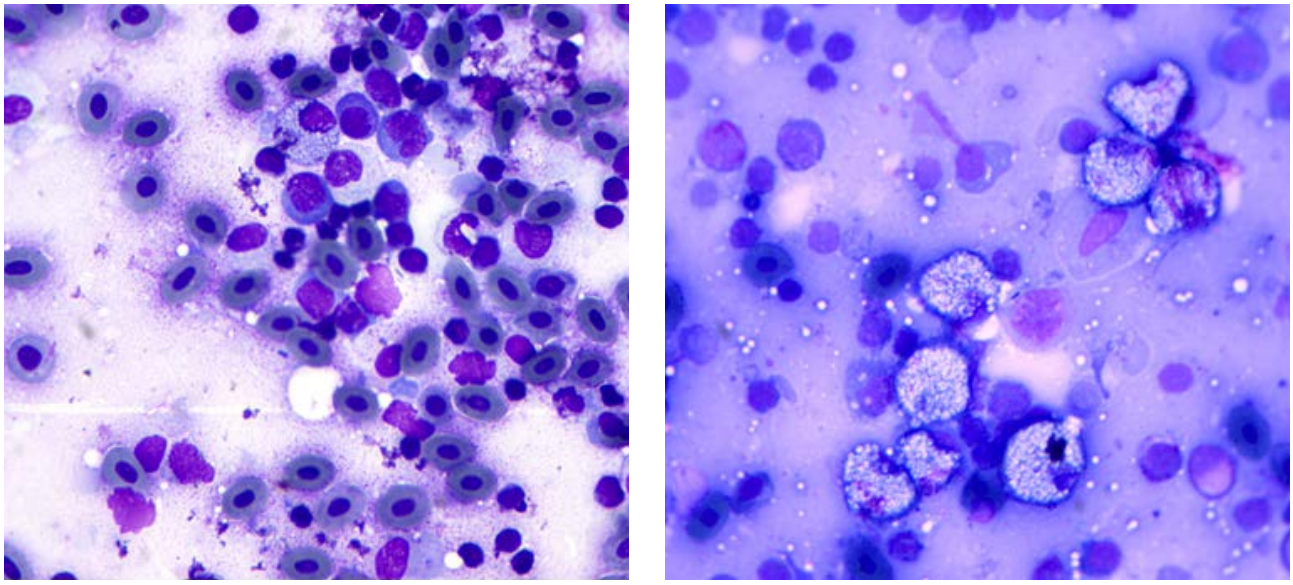


Рис. 1. Малые лимфоциты в тимусе *Cyprinus carpio*. Окраска по Паппенгейму, ув. 1000х



А *Б*

Рис. 2. Нейтрофилы в препарате тимуса рыб. Окраска по Паппенгейму, увеличение х1000

При сравнении контрольной (А) и опытной (Б) группы видим, разницу в количестве нейтрофилов в одном поле зрения: 2 в контрольной и 8 в опытной группе. Гранулы нейтрофилов не воспринимают краситель по Романовскому, из-за чего цитоплазма их выглядит светлой, белого цвета [14, 15]. Форма самих клеток округлая. Ядра эксцентрично расположены, округлой или овальной формы с конденсированным хроматином базофильного цвета.

Стрелкой обозначены моноциты в микропрепарате тимуса *Cyprinus carpio*. Моноциты представляли собой крупные мононуклеарные лейкоциты с обильной зернистой цитоплазмой от серого до голубовато-серого цвета. Ядра округлые или овальные, реже бобовидной или палочковидной формы, с зернистым хроматином, смещены к периферии.

Количество клеток Мотта, тучных клеток (рис. 5) не имело существенных отличий.

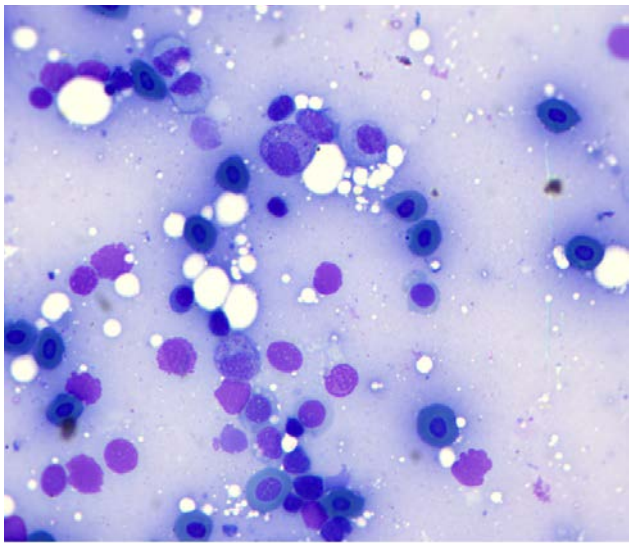


Рис. 3. Моноциты в микропрепарате тимуса карпа обыкновенного. Окраска по Паппенгейму, увеличение х1000

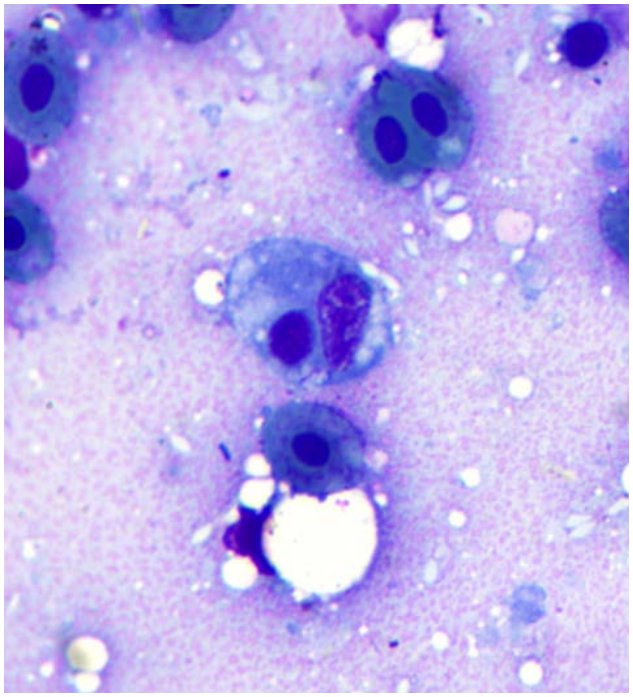


Рис. 4. Цитофагия в препарате тимуса *Cyprinus carpio*. Окраска по Паппенгейму, ув. 1000х

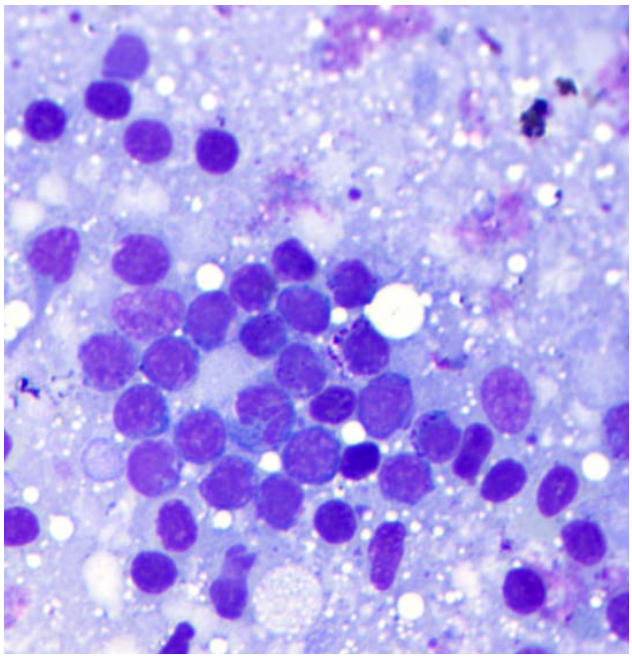


Рис. 5. Базофил на фоне лимфоцитов в микропрепарате тимуса *Cyprinus carpio*. Окраска по Паппенгейму, ув. 1000х

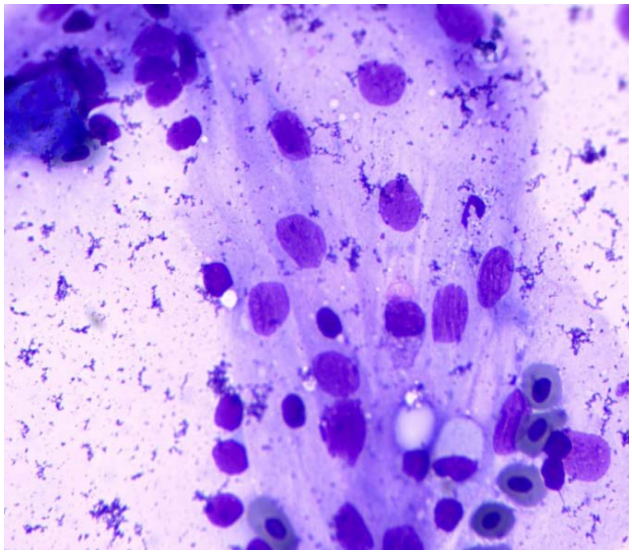


Рис. 6. Пласт эпителиальных клеток в тимусе у *Cyprinus carpio*. Окраска по Паппенгейму, ув. 1000х

Эпителий стромы был представлен обширными пластами (рис. 6). Ядра клеток были округлыми или овальными с пылевидным хроматином, цитоплазма нежная, слабо-базофильная. Границы между клетками были размыты.

На рис. 7 представлены предполагаемые ретикулоэпителиальные клетки. У данных клеток округлое эксцентрично расположенное ядро с зернистым хроматином, 2 нуклеолами. Цитоплазма отросчатая, имеет выраженный базофильный цвет, на периферии наблюдается контур цитоплазмы с светло-базофильным оттенком.

Также стоит отметить наличие во всех группах клеток с квадратными вакуолеподобными включениями, напоминающими кристаллы холестерина (рис. 8 А—Г). Подобные включения описаны в мазке крови игуаны. Существуют два предположения об их происхождении. Первое из них гласит о том, что эти включения цитоплазмы содержат микроэлементы. Второе предположение судит о том, что это вирусные или пиргемоцитонные включения. Точная причина их неизвестна, на данный момент считается, что они не связаны с гематологическими аномалиями или заболеваниями. Так же данные фигуры обнаружены и во внеклеточном пространстве [14, 16].

Особый интерес представляли клетки с светлыми миндалевидными включениями в цитоплазме (15—20 % от всех клеток). Достоверных данных о природе этих включений не обнаружено (рис. 9).

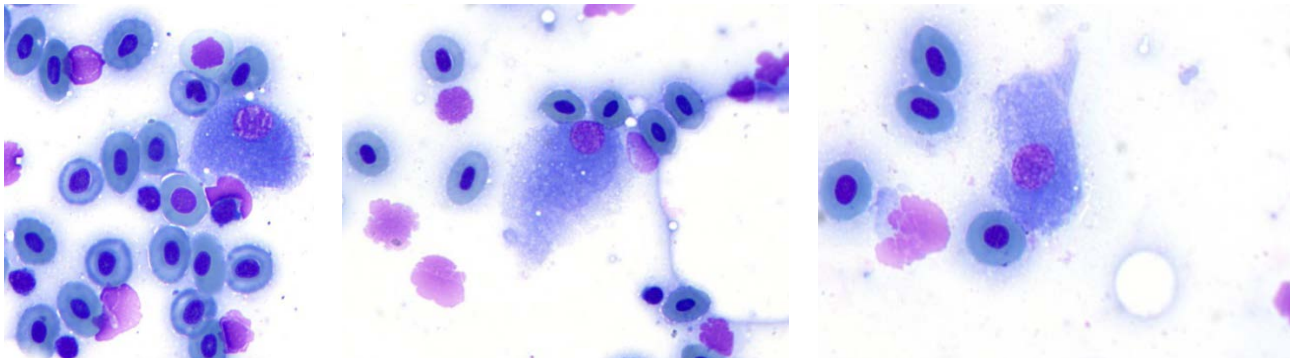


Рис. 7. Ретикулоэпителиальные клетки в тимусе *Cyprinus carpio*. Окраска по Паппенгейму, ув. 1000х

ОБСУЖДЕНИЕ

Описанная нами цитологическая картина тимуса карпа обыкновенного аналогична описаниям данного органа у рыб ранее. Паренхима органа густо заполнена лимфоидными клетками, так же присутствуют в небольшом количестве нейтрофилы, моноциты, тучные клетки, клетки Мотта. Среди стромальных клеток удалось описать эпителиальные и ретикулоэпителиальные клетки, основываясь на полученных ранее морфологических характеристиках этих клеток [6, 7, 10].

Многие клетки при окрашивании по Паппенгейму идентичные таковым клеткам у высших позвоночных (например, лимфоциты, макрофаги, эпителиальные клетки). Некоторые клетки (нейтрофилы, моноциты) имеют свои особенности, которые описаны в различных литературных источниках [15, 16].

Суждения о тельцах Гассаля имеют различные данные. В одних исследованиях они наблюдались только у взрослых особей [17], в других исследованиях, говорится о том, что тельца Гассаля процессе онтогенеза подвергаются дегенерации [8].

В нашем исследовании не было обнаружено телец Гассаля. Вероятно, это может быть связано с возрастными особенностями.

Также следует учитывать, что представленные выше суждения даны на основании гистологических исследований, и, вероятно, достоверность цитологического исследования для обнаружения телец Гассаля низка.

В дальнейших исследованиях стоит уделить внимание объектам, клеткам требующих дополнительных методов исследования для их дифференцировки.

В частности, это клетки с квадратными вакуолеподными включениями и клетки с светлыми миндалевидными включениями в цитоплазме. Данные включения могут содержать микроэлементы, быть вирусные и др. компоненты [14, 16].

В целом, настоящие результаты подчеркивают, что не следует упускать из виду роль тимуса в патологических состояниях у рыб, поскольку это может способствовать более глубокому пониманию взаимодействия хозяина и антигена при заразной и незаразной патологии.

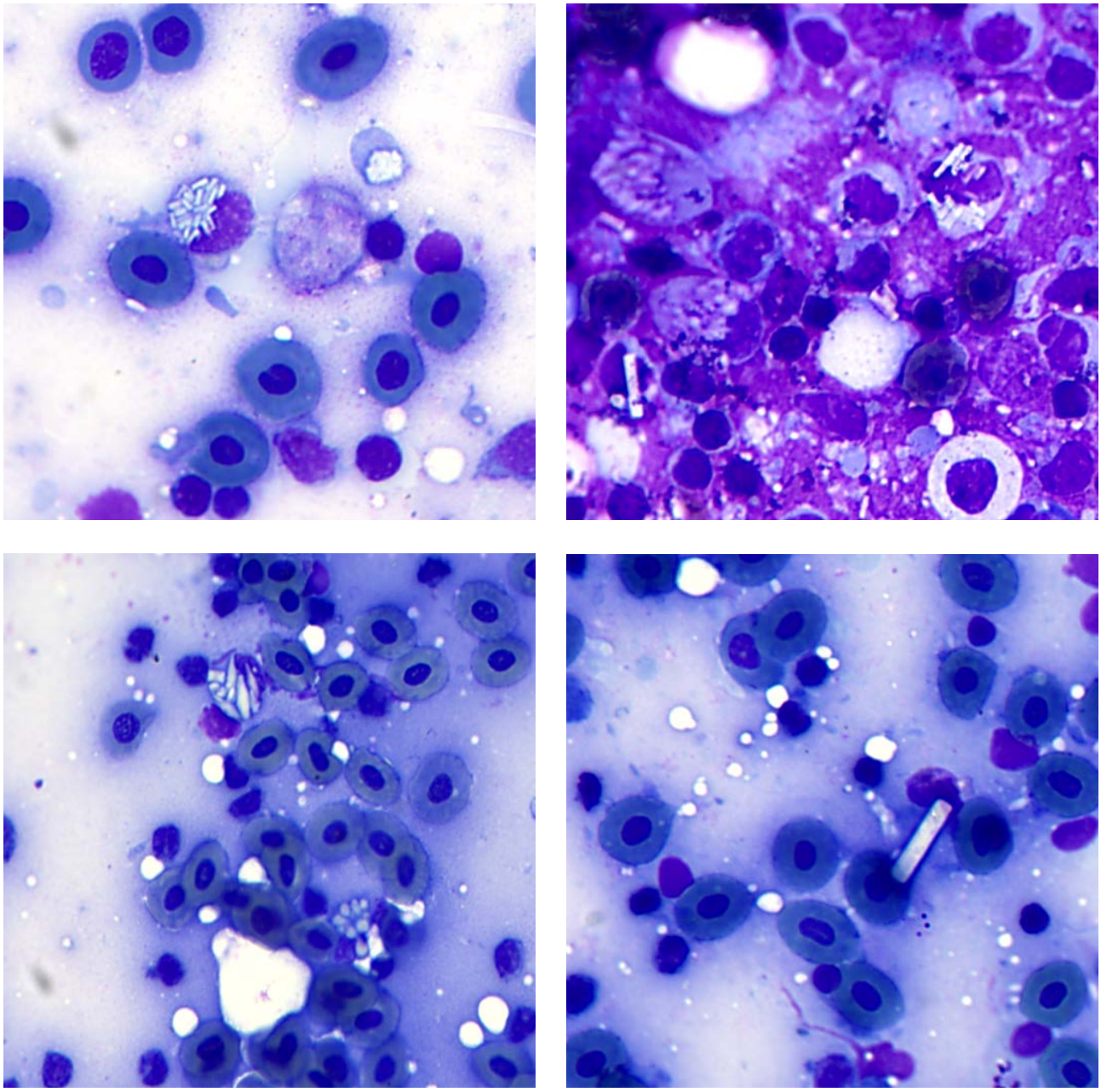


Рис. 8. Квадратные вакуолеподобные включения. Окраска по Паппенгейму, ув. 1000х

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный опыт при фоновом исследовании демонстрирует воспалительную реакцию тимуса у карпа обыкновенного, о чем говорят высокие значения таких воспалительных клеток как моноциты (20,5 %) и нейтрофилы (10,3 %).

В контрольной группе на протяжении исследования сохранены высокие показатели числа нейтрофилов (20,8 % на 14 день, 27,6 % на 28 день, 21,0 % на 42 день).

Большинство клеток при окрашивании по Паппенгейму имели такие же цитологические признаки как у высших позвоночных (лимфоциты, макрофаги и др.). У части клеток (нейтрофилы, моноциты) наблюдались свои особенности свойственные для рыб, описанные в различных литературных источниках.

В большом количестве наблюдались два вида не дифференцируемых клеток с эксцентричными ядрами и цитоплазмой, густо заполненной прямоугольными неокрашенными включениями у одного вида клеток и миндалевидными слабо-базофильными либо неокрашенными включениями у другого вида клеток.

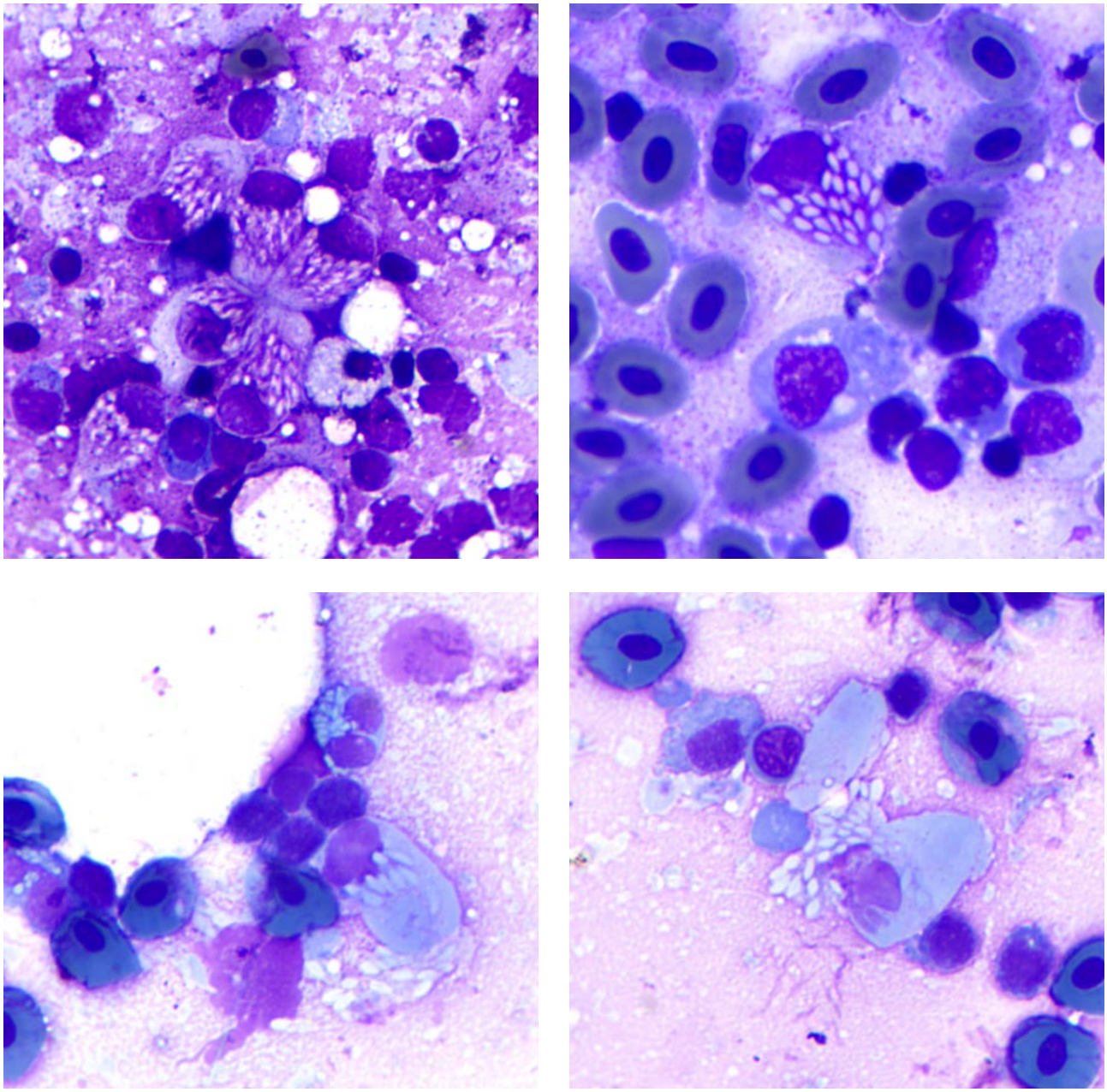


Рис. 9. Клетки заполненные обильно миндалевидными включениями. Окраска по Паппенгейму, ув. 1000х

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Скляров С. П.*, Создание интенсивной технологии производства продукции аквакультуры: методические рекомендации / А. С. Срибный, М. Е. Пономарева, С. П. Скляров, А. А. Покотило // Ставрополь: «АГРУС», 2017. — 118 с.

2. *Salinas I.* The mucosal immune system of teleost fish /*I. Salinas //* Biology (Basel) 4, 2015, 525—539с.

3. *Benhamed S.* Pathogen bacteria adhesion to skin mucus of fishes / S. BenhamedF.A. Guardiola, M. Mars et al. // Vet Microbiol, 2014 171, 1—12

4. *Zapata A.* Ontogeny of the immune system of fish. / B. Diez, T. Cejalvo, et al. // Fish Shellfish Immunol, 2006 20, 126—136.

5. *Jianxun H.*A2020 View of Thymus Stromal Cells in T Cell Development/H. Jianxun, C. Juan //J Immunol. 2021 Jan 15;206(2):249—256

6. *Mohammad M. G.* Anatomy and cytology of the thymus in juvenile Australian lungfish, Neoceratodusforsteri/ M. G. Mohammad, S. Chilmonczyk, D. Birch, S. Aladaileh, D. Raftos, J. Joss// J. Anat, 2007 Dec;211(6):784—97.

7. J. Park.A cell atlas of human thymic development defines T cell repertoire formation /J.Park et al.// Science, 2020 Feb 21;367

8. *J. Cao.* Histology and ultrastructure of the thymus during development in tilapia, Oreochromis niloticus/C. Jianmeng, Q. Chen, M. Lu, X. Hu, M. Wang//J Anat, 2017 May;230(5):720—733

9. *Raskin R. E.* Canine and Feline Cytology/ R. E. Raskin, D. J. Meyer // Elsevier Science. —2015. 512с.

10. *Соколов В. И.* Цитология, гистология и эмбриология/В.И. Соколов, Е. И. Чумасов// М.: «КолосС», 2004. —351с.

11. *Паршин П. А.,* Патоморфологические изменения иммунных органов у телят гипотрофиков. / П. А. Паршин [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. — 2020. — № 3. — С. 221—224.

12. *Волкова О. В.,* Эмбриогенез и возрастная гистология внутренних органов человека / О. В. Волкова, М. И. Пекарский //- М.: Медицина, 1976. — 416 с.

13. *Грушко М. П.,* Структурная и функциональная организация органов гемопоэза костистых рыб (на примере воблы) / М. П. Грушко., Н. Н. Федорова // Вестник АГТУ. — 2008. — № 3. — С. 61—64.

14. *Harr K. E.,* Morphologic and cytochemical characterisitics of blood cells and hematologic and plasma biochemical reference ranges in green iguanas / K. E. Harr, A.R Alleman, P. M. Dennis, L. K. Maxwell, et al. // JAVMA 2001, 218(6):915—921.

15. *Reagan W. J.* Veterinary Hematology: Atlas of Common Domestic and Non-Domestic Species/ W. J. Reagan, *Armando R.* Irizarry Rovira, ByDennis B. Denicola//Wiley Blackwell, 2019, 137с.

16. *Campbell T, W.* Exotic Animal Hematology and Cytology/ T. W. Campbell//Wiley Blackwell, 2015, 403.

17. *Romano N.* Ontogeny of the thymus in a teleost fish, *Cyprinus carpio* L.: developing thymocytes in the epithelial microenvironment/ N. Romano, A. J. Taverne-Thiele, M. Fanelli, M. R. Baldassini, L. Abelli, L. Mastrolia, W B Van Muiswinkel, J. H. Rombout //Elsevier Science. —2015. с. 512.

18. *Gao Y.* Oral Administration of Bacillus subtilis Subunit Vaccine Significantly Enhances the Immune Protection of Grass Carp against GCRV—II Infection / Y. Gao, X. Huo, Z. Wang, G. Yuan, X. Liu, T. Ai, J. Su// Viruses 2022, 14, 30.

19. *Wang X.* Effect of Lactylate and Bacillus subtilis on Growth Performance, Peripheral Blood Cell Profile, and Gut Microbiota of Nursery Pigs / T. Tsai, X. Wei, B. Zuo, E. Davis, T. Rehberger, S. Hernandez, E.J.M.Jochems, C. V. Maxwell, J. Zhao // Microorganisms 2021, 9, 803.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

В. В. Жукова — аспирант;
Е. В. Михайлов — кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией;
В. С. Болотова — младший научный сотрудник;
Ю. В. Шапошникова — доцент, кандидат ветеринарных наук;
Б. В. Шабунин — старший лаборант.

Статья поступила в редакцию 01.07.2022 г.

Original article
UDC 619:612.438:639.215.2

THYMUS CELL POOL OF THE COMMON CARP AGAINST THE BACKGROUND OF USING CELLOBACTERIN-T

Viktoriya Vyacheslavovna Zhukova[*]✉, Evgeniy Vladimirovich Mikhaylov[*], Valeriya Sergeevna Bolotova[*], Yuliya Vladimirovna Shaposhnikova[**], Boris Viktorovich Shabunin[*]

[*]*All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia*
[**]*Voronezh State Agricultural University named after Emperor Peter the Great, Voronezh, Russia, jviktoria_1995@mail.ru*✉

Abstract. This article describes thymus cellular composition of the common carp (*Cyprinus carpio*) at the age of three years against the background of using the probiotic drug Cellobacterin-T that contains *Bacillus subtilitis*. The indicators of the experimental group showed a decrease in the intensity of the inflammatory process, revealed in the background study, which was expressed by a decrease in the percentage of monocytes, neutrophils and an increase in lymphocytes.
During the experiment, thymus smears were made, which were stained according to Pappenheim. Cytosis of microslides was observed from medium to high, the background was basophilic, destroyed erythrocytes were found due to hemodilution. Most of the cells, when stained by Pappenheim, are identical to those of higher vertebrates (lymphocytes, macrophages, epithelial cells, etc.). Some cells (neutrophils, monocytes, etc.) have their own cytomorphological features. The predominant group of cells were small lymphocytes. Blast forms of lymphocytes were observed in a single amount. When using Cellobacterin-T in the experimental group, the indicators of monocytes and neutrophils are much lower than in the control group: D14 — by 1.9 times, D28 — by 1.7 times, D42 — by 1.3 times. The number of lymphocytes is close to the physiological norm: D14—68.6 %, D28—80.7 %, D42—79.4 %, which indicates a decrease in the inflammatory response.
Keywords: thymus, cytology, common carp, lymphocytes, myelocytes, Mott cells

Fish diseases can cause great damage to fish farming, therefore, in order to successfully breed fish, in particular the common carp, to obtain high productivity of water bodies, it is important to know and be able to diagnose the most common fish diseases and effectively implement preventive measures. In some cases, the disease is caused by a pathogen that enters the body of the fish, in others — the fish becomes sick with a lack or an excess of certain substances dissolved in water, sharp fluctuations in water temperature, mechanical damage, as well as insufficient nutrition or malnutrition. Therefore, it is important to study the vital systems of fish organs for their further correction under the conditions of anthropogenesis [1].

Organs or tissues of the immune system in teleosts (bony fish) include the thymus, head kidney, spleen and major mucosal-associated lymphoid tissues [2]. The immune system of the mucous membrane of teleosts is a lymphoid tissue of the skin, intestines, gills, nasopharynx. It is the main lymphoid structure in the body and plays a critical role in the response to infection [3]. The thymus in freshwater teleosts was the first organ to become lymphoid [4]. It is the primary lymphoid organ, in which bone marrow-derived lymphoid progenitor cells develop into functionally competent T cells with continued support from thymic stromal cells [5]. Thymus stromal cells in teleosts are represented by limiting epithelial cells located in the subcapsular, perivascular and peritrabecular zones; reticular epithelial cells located in the medullary and cortical zone; cystic cells located in the medullary zone; thymic cells located in the corticomedullary border and Hassall's bodies [6]. Stromal cells also include various subtypes of fibroblasts and dendritic cells [7]. Other

© Zhukova V. V., Mikhaylov E. V., Bolotova V. S., Shaposhnikova Yu. V., Shabunin B. V., 2022

cellular components of the thymus are macrophages, myoid and mast cells [6].

Thymus tissue is densely filled with lymphoid cells, which contain typically deeply stained nuclei and sparse cytoplasm. Trabeculae may consist of strands of epithelial cells, capillaries or fibrocytes. Cortical and medullary epithelial cells form a network with their cytoplasmic processes, which increase the area of interaction with thymocytes and support the movement of lymphoid cells [6].

After the process of selection and differentiation, T lymphocytes leave the thymus and migrate to the periphery to fulfill their role in the body's immune response [9].

In mammals, the thymus is cytologically represented by numerous cells of the lymphoid series. In addition, epithelioreticular cells can be found in the cytogram, due to the hematopoietic factors of which lymphocyte differentiation occurs. These cells have a large oval or rounded basophilic nucleus with 2—3 nucleoli, the cytoplasm is elongated, with processes, the zone of enlightenment (Golgi complex) can be visualized. Thymus microslides can also contain single neutrophils, macrophages and mast cells (up to 3—5 %) [10].

In mammals, it has been demonstrated that various pathological conditions, such as infectious diseases, can affect the thymus, disrupting its architecture and function and negatively affecting the ongoing immune response [11].

Cellobacterin-T combines the functions of two feed additives — a feed enzyme and a probiotic. The bacteria that make up Cellobacterin®-T (*Bacillus subtilitis*) have a pronounced probiotic effect, inhibit the development of pathogenic and opportunistic microorganisms, which ensures that the balance of the gastrointestinal microflora tract is maintained in the normal range. The enzyme complex of bacterial cellulases contributes to a more complete breakdown of structural fiber (cellulose, hemicellulose), providing a more complete release of feed nutrients.

The previous studies have demonstrated the beneficial effects of *Bacillus subtilitis* in broilers, in particular, high rates of livability, weight gain and a decrease in the number of intestine salmonella [18]. Pigs fed *Bacillus ssubtilis* had a higher weight gain to feed ratio and had an increased total peripheral blood leukocyte count [19].

Considering a great role of the thymus in immune processes, many studies have been carried out on this organ. There are publications on the thymus in fish that describe histological, immunohistochemical studies and expression analysis. Nevertheless, when analyzing the literature available to us, we have found rather scarce data on a cytological study that describes the morphology of cells.

In this regard, the study of the fish thymus cell pool will allow a more detailed study of the physiology and functioning of the immune system of hydrobionts.

Aims and objectives of the research. The aim of the study was to assess changes in the cellular composition of the *Cyprinus carpio* thymus parenchyma cells when using Cellobacterin-T.

MATERIAL AND METHODS

The experiment was carried out on the common carps (*Cyprinus carpio*) on a specialized fish farm of Voronezh. Laboratory studies were carried out on the basis of the Research Center and the Department of Experimental Pharmacology of FSBSI «ARVRIPP&T». For the experiment, one-year-old individuals weighing 250—300 grams were selected. In the baseline study (D0), the thymus was obtained from fish (n = 5) for cytological examination. Subsequently, hydrobionts were divided into two groups (experimental and control ponds).

The carps of the control pond (n = 8000) received the main diet, and the fish kept in the experimental pond (n = 8000) received the probiotic drug Cellobacterin-T at a dosage of 2 kg/t of feed for 30 days in addition to the main diet. Then during the test fishing, from the fish (n = 8) of the experimental and control ponds (n = 8), thymus for cytological examination was taken 14 days (D14), 28 days (D28) and 42 days (D42) after the beginning of using the drug. These drugs were stained according to Pappenheim: 3-minute fixation in a fixative-dye according to May-Grunwald, then for 40 minutes the glasses were immersed in a solution of azure-eosin according to Romanowsky, after which they were placed in polystyrene for further study.

Cytological examination was performed using the Hospitex Diagnostics microscopes. The built-in camera with a resolution of 5 megapixels was used to take photographs.

The percentage of cells was calculated based on 1000 counted cells. Statistical processing of the results was carried out using the Microsoft Excel software package. Reliability was assessed by paired comparisons using the Student's t-test.

STUDY RESULTS

Cytological examination of thymus imprint smears (Table 1) showed from moderate to high cytosis, basophilic background, destroyed erythrocytes due to hemodilution.

Table

Percentage of hematopoietic cells in the thymus of the common carp

Type of cells	Baseline study (D0)	
Lymphocytes	66.7 ± 0.04	
Neutrophils	10.3 ± 0.23	
Monocytes	20.5 ± 0.02	
Mott cells	2.6 ± 0.16	
Type of cells	Control, %	Experiment, %
14 days after the beginning of using the drug		
Lymphocytes	62.5 ± 03.	68.6 ± 0.57
Neutrophils	20.8 ± 0.1	10.7 ± 0.19*
Monocytes	15.6 ± 0.41	20.9 ± 0.02
Mott cells	1.3 ± 0.02	1.4 ± 0.45
28 days after the beginning of using the drug		
Lymphocytes	61.8 ± 0.34	80.7 ± 0.64*
Neutrophils	27.6 ± 0.91	16.2 ± 0.24
Monocytes	9.3 ± 0.5	2.4 ± 0.19
Mott cells	1.4 ± 0.9	1.4 ± 0.47
42 days after the beginning of using the drug (12 days after the drug withdrawal)		
Lymphocytes	69.06 ± 0.04	79.4 ± 0.08*
Neutrophils	21.0 ± 0.67	15.9 ± 0.42
Monocytes	5.7 ± 0.01	3.2 ± 0.17
Mott cells	1.1 ± 0.5	1.6 ± 0.45

* $p < 0.05$ compared to the control group

Two weeks after the use of Cellobacterin-T in the control group, an increase in the percentage of neutrophils has been observed (Fig. 2). Throughout the experiment, these cells in the control group are by 2 times more than in the baseline study: D14 — by 2.02 times, D28 — by 2.7 times, D42 — by 2.04 times. In the experimental group, the inflammatory reaction is less pronounced: on day 14, the ratio of neutrophils in the control and experimental groups does not have significant differences; on day 28, there are more of these cells in the control group by 57.3 %, on day 42 — by 54.4 %.

During the experiment, a decrease in the number of monocytes was found (Fig. 3) in both groups, in the experimental group this decrease is more pronounced: on day 14 after the beginning of using the drug, it is lower than in the baseline study by 20.9 %, on day 28 — by 2 .4 %, on day 42 — by 3.2 %. In the control, on day 14, the ratio is lower by 15.6 %, on day 28 — by 9.3 %, on day 42 — by 5.7 % than in the baseline study. Reactive macrophages with cell phagocytosis, intercellular substance were extremely rare (Fig. 4).

The percentage of lymphocytes in the control group had no significant changes. Throughout the study it was within 10 % of the baseline study. In the experimental group, we observed an increase in lymphocytes by 2.8 % on day 14, by 21 % on day 28, and

by 19 % on day 42. Mostly small lymphocytes were presented (the cell diameter is less than the diameter of an erythrocyte). The cells of the common carp had a structure similar to the lymphocytes of higher vertebrates: the shape of the cells was round, a high nuclear-cytoplasmic ratio, a meager amount of homogeneous light-basophilic cytoplasm, the nuclei were round, with coarse hyperchromic chromatin (Fig. 1). Reactive lymphocytes in most fish were not observed or were in a single amount.

When comparing the control (A) and experimental (B) groups, we see the difference in the number of neutrophils in one field of view: 2 in the control and 8 in the experimental group. Neutrophil granules do not perceive the dye according to Romanowsky, which is why their cytoplasm looks light and white [14, 15]. The shape of the cells themselves is round. The nuclei are eccentrically located, round or oval in shape with basophilic condensed chromatin.

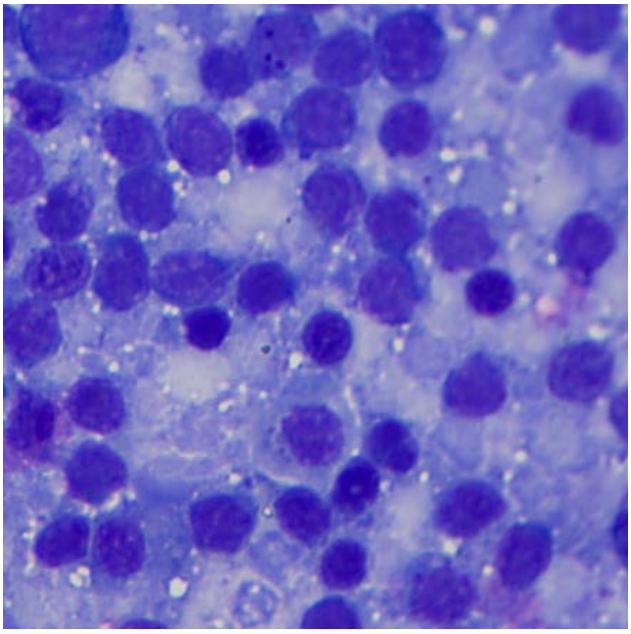
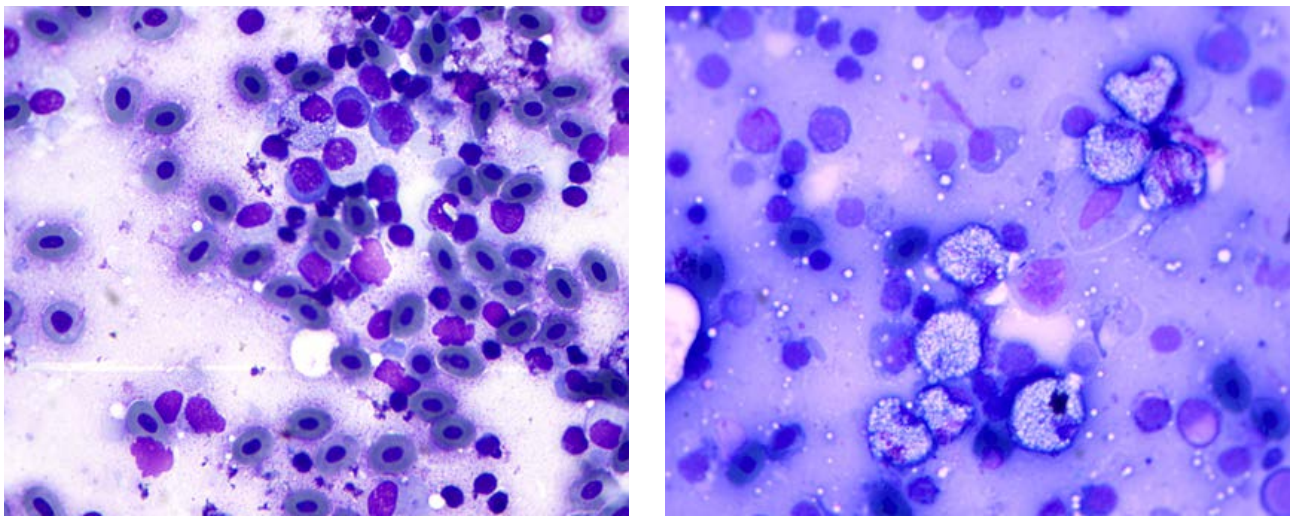


Fig. 1. Small lymphocytes in the thymus of the *Cyprinus carpio*. Pappenheim staining, 1000x magnification



a *b*

Fig. 2. Neutrophils in the specimen of fish thymus. Pappenheim staining, 1000x magnification

The arrow indicates monocytes in a microslide of the *Cyprinus carpio* thymus. Monocytes were large mononuclear leukocytes with abundant granular cytoplasm from grey to bluish-grey. The nuclei are round or oval, less often bean-shaped or rod-shaped, with granular chromatin, displaced to the periphery.

The number of Mott cells, mast cells (Fig. 5) did not differ significantly.

The stromal epithelium was represented by extensive layers (Fig. 6). The cell nuclei were round or oval with dusty chromatin, the cytoplasm was tender, weakly basophilic. The boundaries between cells were blurred.

Figure 7 shows putative reticuloepithelial cells. These cells have a rounded eccentrically located nucleus with granular chromatin, 2 nucleoli. The cytoplasm is processed, has a pronounced basophilic color, on the periphery there is a contour of the cytoplasm with a light basophilic tint.

It is also worth noting the presence of cells with square vacuole-like inclusions resembling cholesterol crystals in all groups (Fig. 8A-D). Similar inclusions

are described in an iguana blood smear. There are two hypotheses about their origin. The first of them states that these inclusions of the cytoplasm contain trace elements. The second assumption judges that these are viral or pyrhemocytonic inclusions. The exact cause of them is unknown, at the moment it is believed that they are not associated with hematological abnormalities or diseases. These figures were also found in the extracellular space [14, 16].

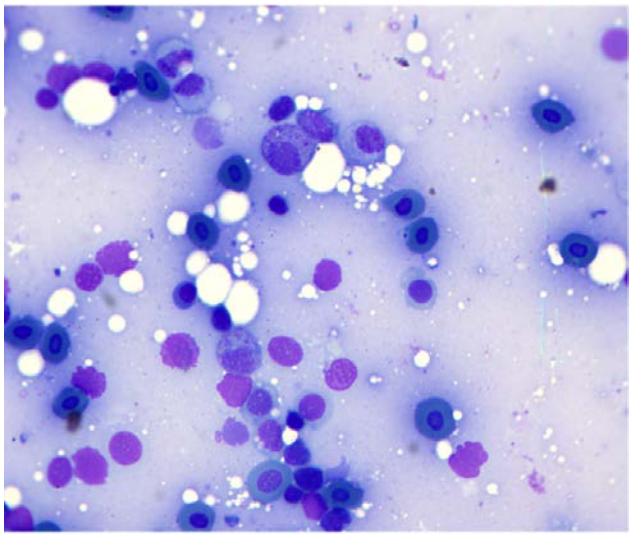


Fig. 3. Monocytes in the microslide of the common carp thymus. Pappenheim staining, 1000 x magnification

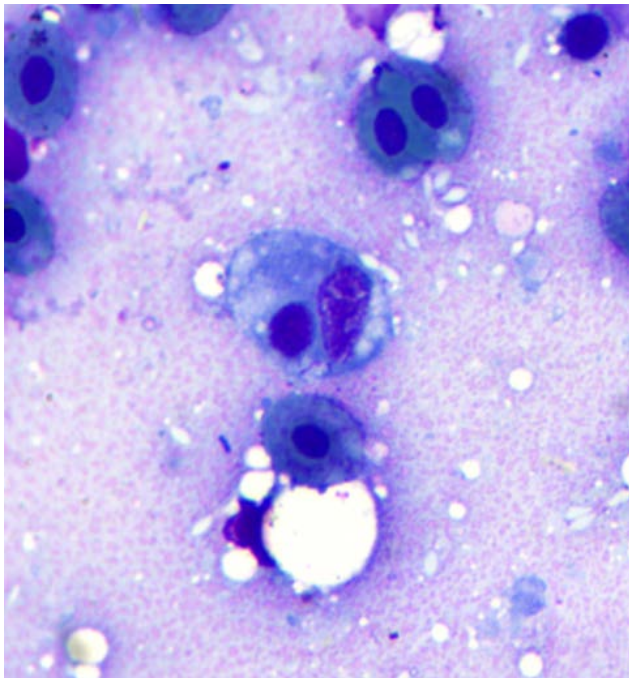


Fig. 4. Cytophagy in the specimen of the *Cyprinus carpio* thymus. Pappenheim staining, 1000x magnification

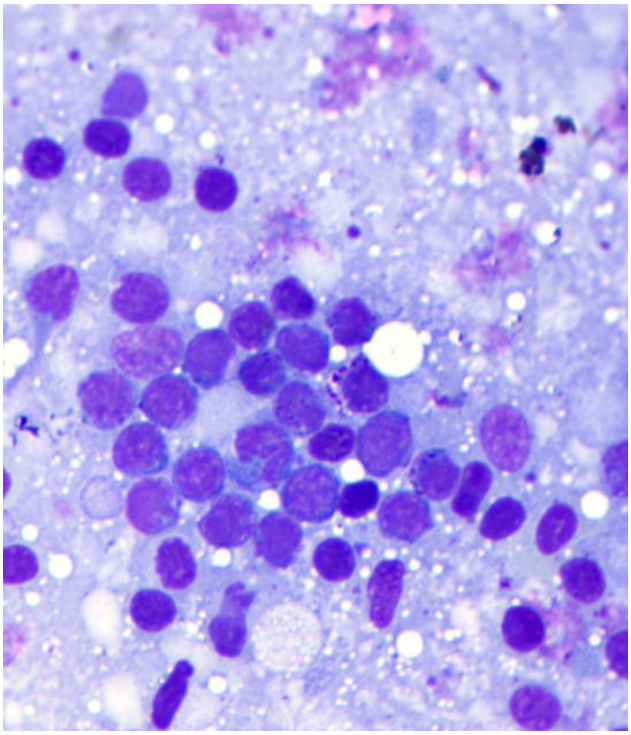


Fig. 5. Basophil against the background of lymphocytes in the microslide of the *Cyprinus carpio* thymus. Pappenheim staining, 1000x magnification

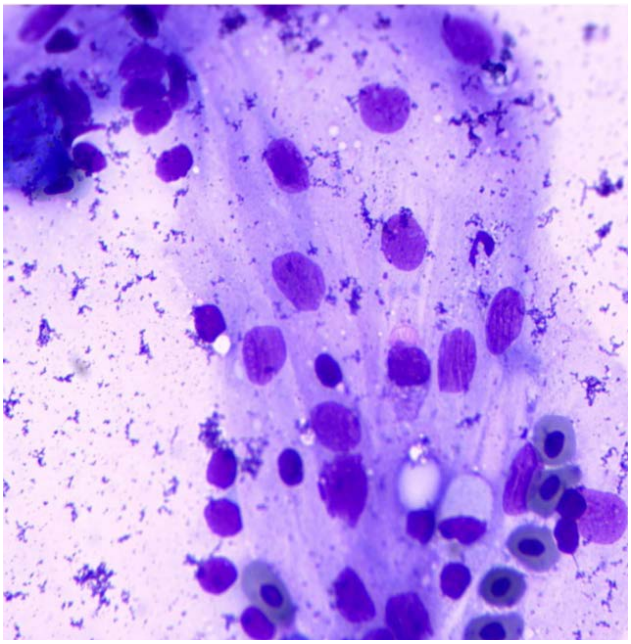


Fig. 6. Layer of epithelial cells in the *Cyprinus carpio* thymus. Pappenheim staining, 1000x magnification

Of particular interest were cells with light almond-shaped inclusions in the cytoplasm (15—20 % of all cells). Reliable data on the nature of these inclusions have not been found (Fig. 9).

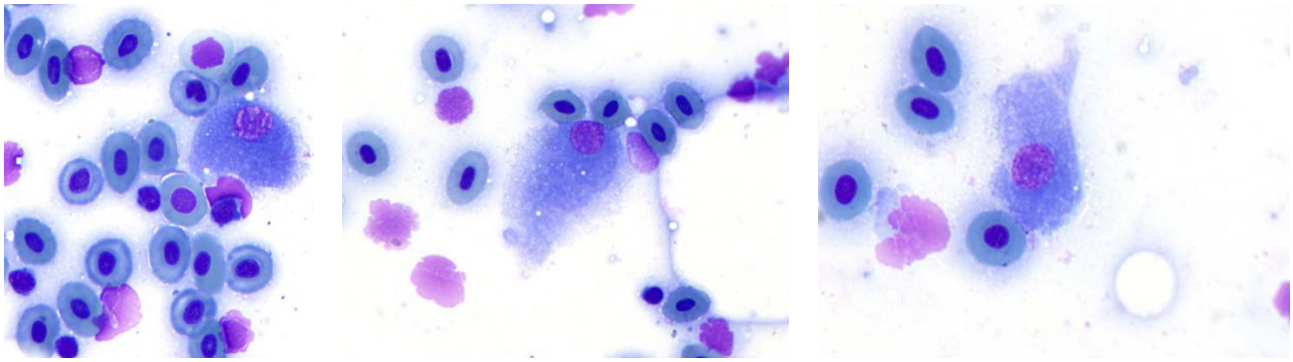


Fig. 7. Reticuloepithelial cells in the *Cyprinus carpio* thymus. Pappenheim staining, 1000x magnification

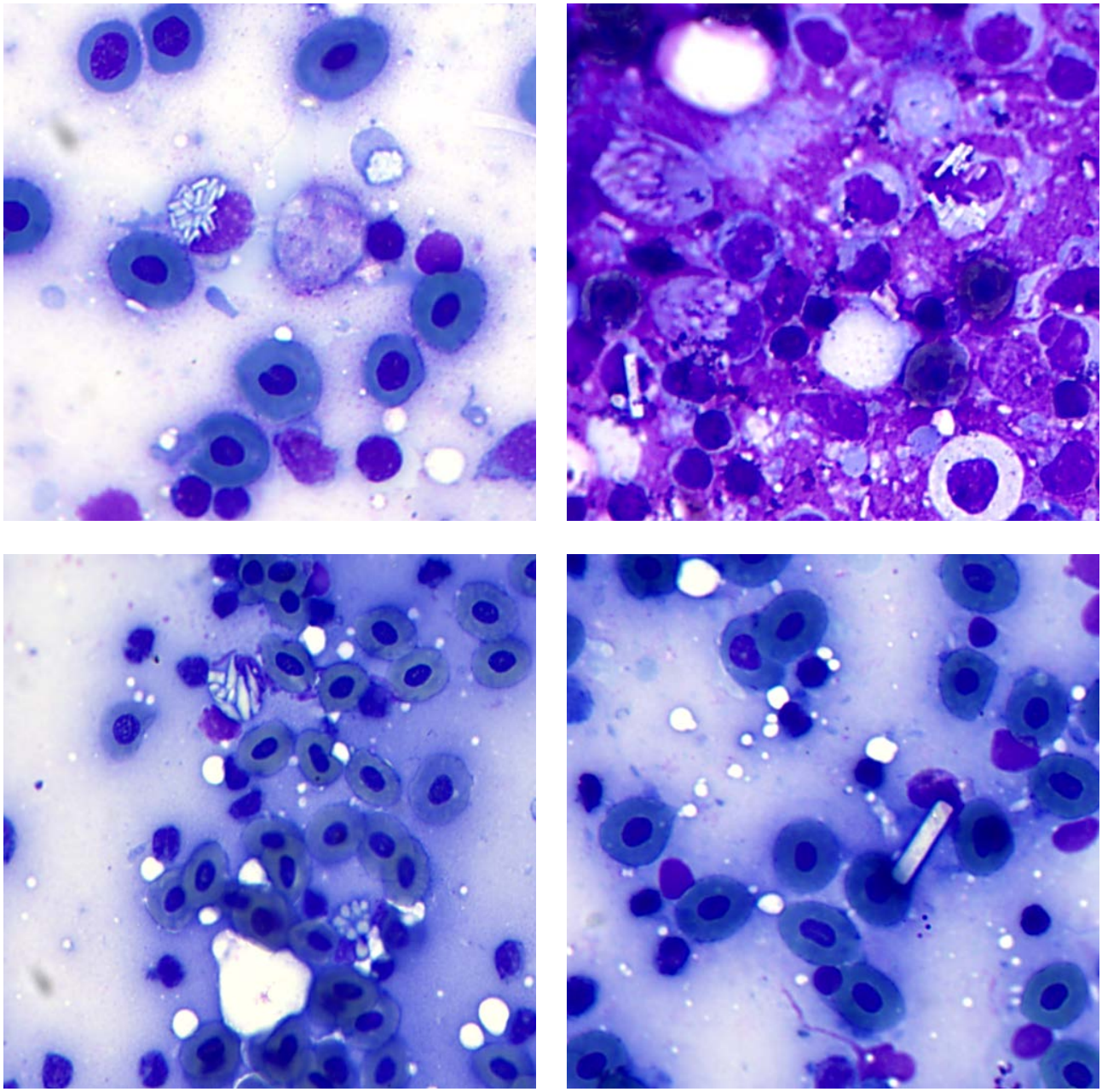


Fig. 8. Square vacuole-like inclusions. Pappenheim staining, 1000x magnification

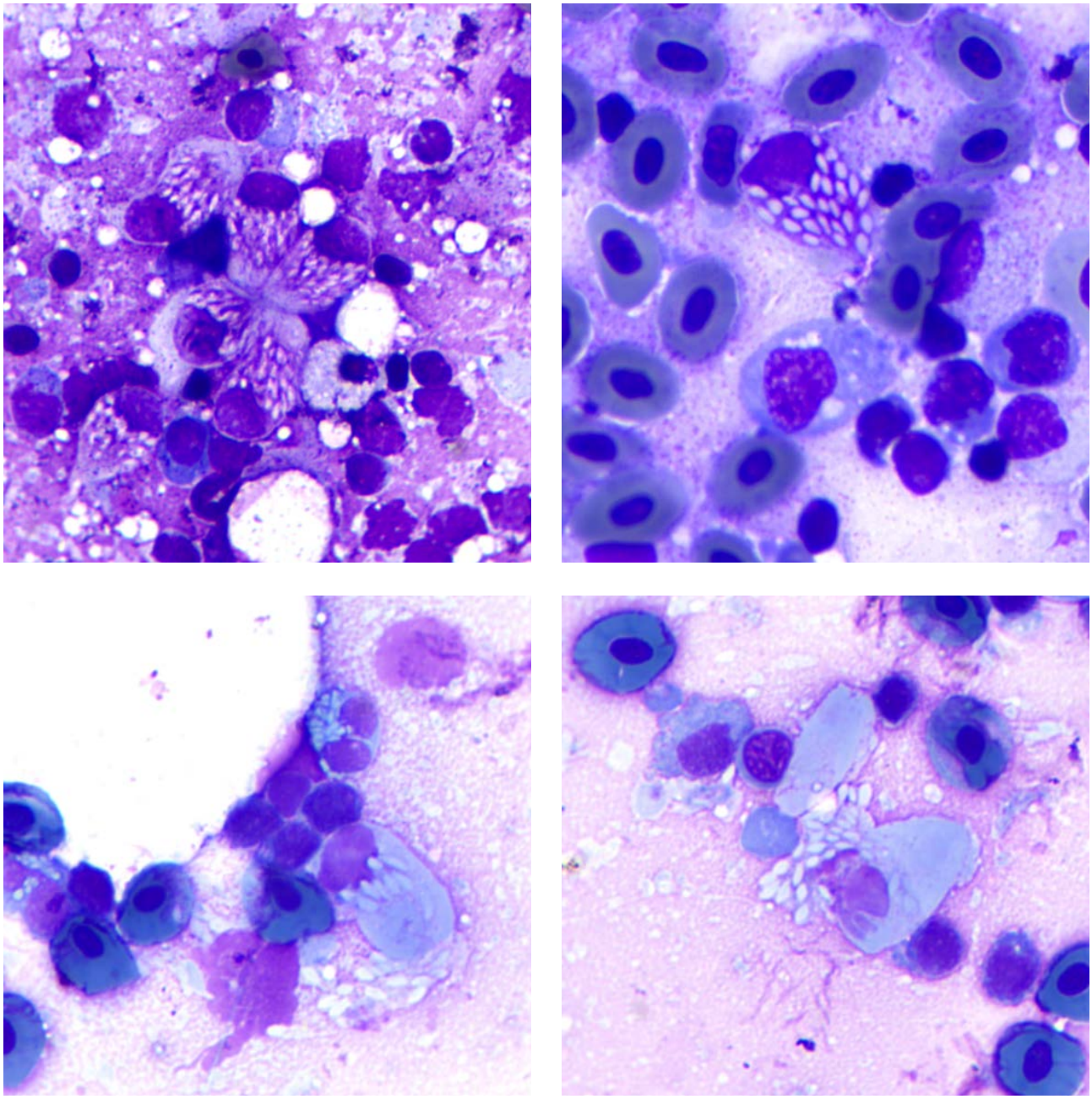


Fig. 9. Cells richly filled with almond-shaped inclusions. Pappenheim staining, 1000x magnification

DISCUSSION

The cytological picture of the common carp thymus described by us is similar to the descriptions of this organ in fish earlier. The parenchyma of the organ is densely filled with lymphoid cells. Neutrophils, monocytes, mast cells and Mott cells are also present in a small amount. Among stromal cells, it was possible to describe epithelial and reticuloepithelial cells based on the previously obtained morphological characteristics of these cells [6, 7, 10].

Many cells, when stained by Pappenheim, are identical to those of higher vertebrates (e. g., lymphocytes, macrophages, epithelial cells). Some cells (neutrophils, monocytes) have their own characteristics, which are described in various literature sources [15, 16].

Judgments about Hassall's bodies have different data. In some studies, they were observed only in adults [17], in other studies, it is said that Hassall's bodies undergo degeneration during ontogenesis [8].

In our study, Hassall's bodies were not found. Probably, this may be due to age characteristics. It should also be taken into account that the judgments presented above are given on the basis of histological studies, and probably, the reliability of a cytological study

for the detection of Hassal's bodies is low. In further studies, attention should be paid to objects that require additional research methods for their differentiation. In particular, these are cells with square vacuole-like inclusions and cells with light almond-shaped inclusions in the cytoplasm. These inclusions may contain trace elements and other components, be viral [14, 16].

Overall, the present results emphasize that the role of the thymus in pathological conditions in fish should not be overlooked, as this may contribute to a better understanding of host-antigen interactions in case of infectious and non-infectious pathologies.

The conducted experiment with a baseline study demonstrates the inflammatory response of the common carp thymus, as evidenced by the high values of such inflammatory cells as monocytes (20.5 %) and neutrophils (10.3 %). In the control group, high levels of neutrophil count were maintained throughout the study (20.8 % on day 14, 27.6 % on day 28, 21.0 % on day 42).

Most of the cells, when stained by Pappenheim, had the same cytological features as in higher vertebrates (lymphocytes, macrophages, etc.). Some of the cells (neutrophils, monocytes) had their own features typical of fish, described in various literature sources.

Two types of non-differentiable cells with eccentric nuclei and cytoplasm densely filled with rectangular unstained inclusions in one type of cells and almond-shaped weakly basophilic or unstained inclusions in another type of cells were observed in large numbers.

REFERENCES

1. *Sklyarov S. P.,* Design of an intensive technology for the production of aquaculture products: methodical recommendations / A. S. Sribnyy, M. E. Ponomareva, S. P. Sklyarov, A. A. Pokotilo // Stavropol: «AGRUS», 2017. — 118 p.

2. *Salinas I.* The mucosal immune system of teleost fish /*I. Salinas //* Biology (Basel) 4, 2015, 525—539p.

3. *Benhamed S.* Pathogen bacteria adhesion to skin mucus of fishes / S. Benhamed, F. A. Guardiola, M. Mars et al. //Vet Microbiol, 2014 171, 1—12.

4. *Zapata A.* Ontogeny of the immune system of fish. / B. Diez, T. Cejalvo, et al. // Fish Shellfish Immunol, 2006 20, 126—136.

5. *Jianxun H.* A 2020 View of Thymus Stromal Cells in T Cell Development / H. Jianxun, C. Juan //J Immunol. 2021 Jan 15;206(2):249—256.

6. *Mohammad M. G.* Anatomy and cytology of the thymus in juvenile Australian lungfish, Neoceratodusforsteri / M. G. Mohammad, S. Chilmonczyk, D. Birch, S. Aladaileh, D. Raftos, J. Joss// J. Anat, 2007 Dec;211(6):784—97.

7. J. Park. A cell atlas of human thymic development defines T cell repertoire formation / J. Park et al.// Science, 2020 Feb 21;367.

8. *J. Cao.* Histology and ultrastructure of the thymus during development in tilapia, Oreochromis niloticus / C. Jianmeng, Q. Chen, M. Lu, X. Hu, M. Wang // J Anat, 2017 May; 230(5):720—733.

9. *Raskin R. E.* Canine and Feline Cytology / R. E. Raskin, D. J. Meyer // Elsevier Science. —2015. 512p.

10. *Sokolov V. I.* Cytology, histology and embryology / V. I. Sokolov, E. I. Chumasov // M.: «KolosS», 2004. —351p.

11. *Parshin P. A.,* Pathological changes in immune organs in hypotrophic calves. / P. A. Parshin [et al.] // Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii (Normative-legal regulatory issues in veterinary medicine). — 2020. — No. 3. — P. 221—224.

12. *Volkova O. V.,* Embryogenesis and age-related histology of human internal organs / O. V. Volkova, M. I. Pekarskiy // — M.: Meditsina (Medicine), 1976. — 416 p.

13. *Grushko M. P.,* Structural and functional organization of the organs of hematopoiesis of teleosts (on the example of vobla) / M. P. Grushko., N. N. Fedorova // Vestnik AGTU (Bulletin of ASTU). — 2008. — No. 3. — p. 61—64.

14. *Harr K. E.,* Morphologic and cytochemical characterisitics of blood cells and hematologic and plasma biochemical reference ranges in green iguanas / K. E. Harr, A.R Alleman, P. M. Dennis, L. K. Maxwell, et al. // JAVMA 2001, 218(6):915—921.

15. *Reagan W. J.* Veterinary Hematology: Atlas of Common Domestic and Non-Domestic Species / W. J. Reagan, *Armando R.* Irizarry Rovira, ByDennis B. Denicola // Wiley Blackwell, 2019, 137p.

16. *Campbell T. W.,* Exotic Animal Hematology and Cytology / T. W. Campbell // Wiley Blackwell, 2015, 403.

17. *Romano N.* Ontogeny of the thymus in a teleost fish, *Cyprinus carpio* L.: developing thymocytes in the epithelial microenvironment/ N. Romano, A. J. Taverne-Thiele, M. Fanelli, M. R. Baldassini, L. Abelli, L. Mastrolia, W B Van Muiswinkel, J. H. Rombout // Elsevier Science. —2015. p.512.

18. *Gao Y.* Oral Administration of Bacillus subtilis Subunit Vaccine Significantly Enhances the Immune Protection of Grass Carp against GCRV—II Infection / Y. Gao, X. Huo, Z. Wang, G. Yuan, X. Liu, T. Ai, J. Su // Viruses 2022, 14, 30.

19. *Wang X.* Effect of Lactylate and Bacillus subtilis on Growth Performance, Peripheral Blood Cell Profile, and Gut Microbiota of Nursery Pigs / T. Tsai, X. Wei, B. Zuo, E. Davis, T. Rehberger, S. Hernandez, E.J.M. Jochems, C. V. Maxwell, J. Zhao // Microorganisms 2021, 9, 803.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS
V. V. Zhukova — Postgraduate Student;
E. V. Mikhaylov — Candidate of Veterinary Sciences, Head of the Laboratory;
V. S. Bolotova — Junior Scientific Associate;
Yu. V. Shaposhnikova — Associate Professor, Candidate of Veterinary Sciences;
B. V. Shabunin — Senior Laboratory Assistant.

The article was submitted 01.07.2022.

Обзорная статья
УДК 612.017:618
DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.3.144

РОЛЬ ЦИТОКИНОВ В ОБЕСПЕЧЕНИИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Лариса Юрьевна Сашнина✉, Алексей Гаврилович Шахов, Юлия Юрьевна Владимирова, Галина Васильевна Никоненко

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, l.yu.sashnina@mail.ru✉

Аннотация. В статье представлен обзор научных данных о роли про- и противовоспалительных цитокинов, хемокинов и костимулирующих факторов при физиологической беременности. Значительное внимание уделяется участию цитокинов в регуляции взаимоотношения матери и плода. Рассмотрены механизмы воспалительной реакции на ранней стадии беременности, необходимой для обеспечения имплантации и развития эмбриона. При нормальном течении беременности цитокиновый баланс смещается в сторону иммуносупрессорных Th2- цитокинов, ингибирующих реакции клеточного иммунитета и стимулирующих прогестерон, хорионический гонадотропин и выработку блокирующих антител.
Ключевые слова: беременность, цитокины, иммуносупрессия, интерфероны, Т-лимфоциты

Физиологическая беременность характеризуется состоянием локальной иммуносупрессии и адаптационно-приспособительными изменениями, направленными на создание оптимальных условий для роста и развития плода [1—10]. Структурно-функциональная перестройка в иммунной системе организма матери ассоциируется с естественным (физиологическим) иммунодефицитом, что предотвращает отторжение наполовину чужеродного плода [11—13].

Иммуносупрессия, являющаяся одним из механизмов индукции толерантности к аллоантигенам плода, обусловлена снижением активности макрофагов, нейтрофилов, естественных киллеров, активацией Т-супрессоров, а также изменением баланса цитокинов, принимающих участие в регуляции соотношения иммуномодулирующих и иммуносупрессивных эффектов в эндометрии, трофобласте, а в последующем — и в плаценте, [11; 14—19] и обеспечивающих физиологический уровень сосуществования генетически чужеродных организмов матери и плода [20—28].

Цитокины, продуцируемые, клетками лимфомиелодного комплекса, выступают аутокринными и паракринными регуляторами (медиаторами) гипоталамогипофизарной системы и участвуют в процессах оплодотворения, имплантации и плацентации [24, 25; 29—31].

Согласно теории иммунотрофизма успешность пролонгирования беременности зависит от баланса провоспалительных Th1 (ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-12, ФНО-α, ИНФ-α, ИНФ-β, ИНФ-γ, хемокины — ИЛ-8, моноцитарный хемотоксический фактор и др.) и противовоспалительных Th-2/Th3 цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10, ТФР-β и др.) [2, 22, 32, 33], являющихся медиаторами межклеточных коммуникаций и образующих многокомпонентную систему молекулярно-клеточной регуляции процессов развития и функционирования фетоплацентарного комплекса [6, 34, 35].

В настоящее время установлено, что при физиологическом течении беременности цитокиновый баланс смещается в сторону иммуносупрессорных Th-2 цитокинов, ингибирующих реакции клеточного иммунитета, стимулирующих синтез прогестерона и хорионического гонадотропина и выработку блокирующих антител [2, 36—40].

По мнению ряда авторов, начальный период беременности проявляется временной воспалительной реакцией с повышением экспрессии провоспалительных цитокинов, необходимой для имплантации и плацентации, при этом активируются процессы неоваскуляризации и кровоснабжения в эндометрии, формируются кровеносные сосуды для обеспечения адекватного кровоснабжения плаценты и плода [29, 41—43].

© Сашнина Л. Ю., Шахов А. Г., Владимирова Ю. Ю., Никоненко Г. В., 2022

Как известно, центральным медиатором локальных и системных воспалительных реакций является ИЛ-1 [29, 44, 45], который продуцируется, главным образом, макрофагальными клетками в стадии их активации, моноцитами, фибробластами и эндотелиальными клетками [21, 23, 24]. ИЛ-1 экспрессируется трофобластом на участке имплантации и участвует в пре- и имплантационном развитии эмбриона [46, 47]. На начальных этапах эмбриогенеза под влиянием ИЛ-1отмечается усиление адгезивных свойств трофобласта [48].

Следует отметить, что он избирательно активирует процессы синтеза и секреции белковопептидных и стероидных гормонов, рилизинг-факторов, концентрация которых оказывает существенное влияние на течение беременности. Усиливая продукцию хорионического гонадотропина — основного гормона беременности, ИЛ-1 угнетает секрецию пролактина. Связывание ИЛ-1 с его рецепторами в материнском организме способствует имплантации и развитию плода, стимулирует пролиферацию клеток, образующих плацентарный барьер.

Глухова Т. Н. [21], Веропотвелян П. Н. [29], Xia H. [48] отмечают, что ИЛ-1 играет ключевую роль в становлении гуморального и клеточно-опосредованного иммунитета, является важнейшим монокином, осуществляющим процессы генерации эффекторных и регуляторных клеток иммунной системы, оказывая выраженное влияние на дифференцировку иммунокомпетентных клеток. Изменение уровня ИЛ-1 может быть результатом взаимодействия иммунной и эндокринной систем.

Исследованиями C. Dinarello [49] установлено, что повышенная секреция ИЛ-1 может приводить к увеличению концентраций фактора некроза опухоли альфа (ФНО-α), интерферона- гамма (ИФН-γ), ИЛ-2, ИЛ-12, что в свою очередь может осложнять течение беременности, а поддержание этого цитокина на низком уровне является одним из факторов, способствующих ее пролонгированию.

Также к одному из основных цитокинов, участвующих в регуляции иммунного ответа при беременности, относится ИЛ-2, который синтезируется Т-хелперами 1-го типа и, являясь индуктором секреции иммунопотенцирующих лимфо- и монокинов, участвует в формировании как гуморального, так и клеточно-опосредованного иммунных ответов [29].

В период беременности местом синтеза и секреции ИЛ-2 является синцитиотрофобласт, в котором экспрессируются гены, кодирующие его аминокислотную последовательность [21, 23]. Хонина Н. А. [24], Глухова Т. Н. [21] отмечают способность ИЛ-2 воздействовать на трофику клеток плаценты и активировать клетки-супрессоры.

R. Raghupathy [50] считает, что присутствие ИЛ-2 необходимо для процессов плацентации, созревания и функционирования трофобласта. Исследованиями C. Chan [51] выявлено, что повышение продукции ИЛ-2 может привести к усилению выработки других провоспалительных цитокинов и осложнить течение беременности.

Многофункциональным цитокином с провоспалительными иммунорегуляторными свойствами является фактор некроза опухоли-α (ФНО-α). Основными его продуцентами выступают мононуклеарные фагоциты, лимфоидные клетки и плацента [21]. При воздействии на иммунокомпетентные клетки ФНО-α индуцирует экспрессию антигенов главного комплекса гистосовместимости, молекул адгезии, стимулирует продукцию интерлейкинов ИЛ-1, ИЛ-6, колониестимулирующих факторов и простогландина F-2α [23, 24].

По результатам исследования Ashton S. и соавт. [52] гиперсекреция ФНО-α приводит к существенному увеличению числа апоптических клеток трофобласта, что может служить одним из факторов, способствующих осложнению беременности. Г. Т. Сухих [53] установлено, что ФНО-α активирует натуральные клетки-киллеры (NK-клетки), способные лизировать трофобласт.

По данным Staszewski-Chavez S. и соавт. [54] значительное внимание уделяется роли фактора некроза опухоли-α в регуляции процессов апоптоза клеток плаценты. Увеличение его концентрации индуцирует торможение пролиферации и апоптоз клеток эндотелия, вызывающие нарушение микроциркуляции в ткани плаценты [55].

К цитокинам, оказывающим преимущественно депрессорные эффекты, относятся интерферон 1 типа — ИФН-α и ИФН-β. Источником ИФН-α являются NK-клетки, Т- и В- лимфоциты, дендритные клетки, моноциты, макрофаги и др. [56—59].

ИФН-α усиливает продукцию желтым телом прогестерона, выступает индуктором кортизола и хорионального гонадотропина в период беременности и одновременно блокирует процессы синтеза простогландина F2α, что определяет физиологическое развитие беременности, пролонгируя процессы имплантации и плацентации зиготы [21, 47]. Обладая выраженным иммунорегуляторным действием он повышает клеточную цитотоксичность Т-лимфоцитов и NK-клеток, ингибирует пролиферативную активность лимфоцитов [58, 59].

ИФН-β синтезируется фибробластами и эпителиальными клетками [56]. Механизм его действия связан с изменением баланса про- и противовоспалительных факторов, в частности с подавлением продукции провоспалительных цитокинов, интерлейкина-17, ИНФ-γ и повышением продукции противовоспалительного ИЛ-10 [60—62].

Важную роль на начальном этапе имплантации и эмбрионального развития играет ИФН-γ, который блокирует развитие ответа по типу Th2, угнетает синтез ИЛ-4 и пролиферацию Th2 — клеток [29]. ИФН-γ продуцируется децидуальными NK-клетками и обладает имуннорегуляторными, антипролиферативными и проапоптотическими свойствами [22, 33, 57, 63, 64].

Молекулярные механизмы действия обусловлены его способностью ингибировать пролиферацию трофобласта и одновременно подавлять продукцию ГМ-КСФ, являющегося его ростовым фактором. Кроме того, ИФН-γ стимулирует NK-клетки и цитотоксические Т-лимфоциты, формируя лимфокинактивированные клетки-киллеры, обладающие потенциальной способностью повреждать трофобласт и подавлять его гормональную функцию [44].

При патологическом течении беременности возможна гиперфункция клеток Th1, продуцирующих провоспалительные цитокины, в том числе ИФН-γ, что может приводить к избыточно выраженным воспалительным реакциям в организме, особенно при персистенции инфекционных агентов [29].

Низкий уровень ИФН-γ в течение беременности обеспечивает преимущество супрессорной активации над хелперной, что препятствует отторжению плода [65].

ИЛ-6, наряду с другими цитокинами плаценты, синтезируется Т- и В-лимфоцитами, клетками эндотелия, фибробластами, моноцитами и макрофагами, а также трофобластом [21, 24, 29, 66]. Установлено, что ИЛ-6, вырабатываемый клетками трофобласта активизирует выработку хориогонического гонадотропина [67, 68].

С одной стороны, совместно с ИЛ-1 и ФНО-α он реализует перестройку эндокринной системы матери, а с другой — контролирует иммунные реакции в фетоплацентарной зоне [21].

Стоит отметить, что ИЛ-6, являясь регулятором реакций острой фазы воспаления и гемопоэза, выступает в качестве медиатора защитных процессов от инфекции и повреждения тканей. При инфекционном воздействии ИЛ-6 индуцирует в печени синтез белков острой фазы, что способствует повышению уровня простагландинов и преждевременному развитию родовой деятельности [24, 29, 69].

Исследованиями Margni R., Zenclussen A. [70] установлено, что ИЛ-6 ингибирует продукцию ИЛ-1 и ФНО-α, оказывая тем самым противовоспалительное действие.

Уменьшение продукции ИЛ-6 у беременных может быть одним из патогенетических факторов подавления иммуносупрессорных реакций и срыва иммунологической толерантности матери по отношению к антигенам плода [21].

Повышенный уровень ИЛ-6 является маркером прогнозирования преждевременной родовой деятельности. Вероповетлян и соавт. [29] отмечают, что ИЛ-6, по-видимому, активирует нейтрофильные гранулоциты, макрофаги к местной выработке провоспалительных цитокинов, простогландинов, NO, которые способствуют процессу созревания и раскрытия шейки матки, а так же аналогично ИЛ-1 повышает экспрессию рецепторов к окситоцину на клетках эндометрия.

При физиологическом течении беременности на всем ее протяжении важную роль играет хемокин ИЛ-8, продуцируемый макрофагами, фибробластами, эндотелиальными и эпителиальными клетками эндометрия. Синтез его усиливается под действием ИЛ-1 или ФНО-γ [31, 41, 71, 72], а в секреторную фазу цикла снижается под влиянием повышения концентрации прогестерона.

ИЛ-8 обеспечивает ангиогенез и защиту плацентарных оболочек, принимает участие в регуляции созревания шейки матки и начале родовой деятельности [31, 73] вызывая миграцию нейтрофильных гранулоцитов из кровотока и активируя освобождение ими коллагеназы и эластазы, ферментов, расщепляющих внеклеточный матрикс, вырабатываемый цервикальными фибробластами [74].

Существенное значение в репродуктивной функции, в т. ч. в фолликулогенезе, овуляции, функции эндометрия и плаценты имеет гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ) [20, 75]. Он продуцируется эндотелиальными клетками, фибробластом, макрофагами и лимфоцитами, а также эпителиальными клетками репродуктивного тракта под действием стероидных гормонов [20].

Помимо регуляции дифференцировки и функций иммунных клеток, ГМ-КСФ обеспечивает привлечение лейкоцитов в эндометрий [76]. Секретируемый в полость матки ГМ-КСФ способствует

адгезии доимплантационной бластоциты, последующему росту трофобласта и его инвазии путем повышения экспрессии адгезионных молекул, усиления продукции протеаз и других цитокинов [77, 20].

В экспериментах на мышах было установлено, что ГМ-КСФ усиливает метаболизм глюкозы, пролиферацию клеток бластоцисты и повышает жизнеспособность доимплантационного эмбриона [78]. Кроме того, при беременности, ГМ-КСФ играет существенную роль в формировании иммунотолерантности к плоду через модуляцию активности антигенпрезентирующих дендритных клеток и макрофагов, которые определяют выраженность Т-клеточного иммунного ответа. В присутствии ГМ-КСФ и ИЛ-4 моноциты, мигрирующие в слизистую матки, дифференцируются в толерогенные дендритные клетки [79].

Снижение продукции ГМ-КСФ может оказывать влияние на функцию дендритных клеток, сдвигая их фенотип от толерогенного к активирующему Th1-клетки и нарушая иммунотолератность к плоду на ранних сроках беременности, что наблюдается при бесплодии, самопроизвольных абортах [80].

Во время физиологической беременности важную роль играют противовоспалительные цитокины Th-2 типа (ИЛ-4, ИЛ-10, ТФР-β и др.). Они способствуют плацентарному образованию, моделируют инвазию и дифференцировку трофобласта, индуцируют плацентарную пролиферацию и ангиогенез, а также ингибируют простогландин и продукцию моноцитами провоспалительных цитокинов [44].

Интерлейкин-4 — регулятор роста, дифференцировки В-лимфоцитов и процесса синтеза антител, обнаруживается на границе мать-плод на всех этапах беременности [20, 22, 81]. Продуцируется ИЛ-4 активированными CD4+ Т-лимфоцитами (Th2), тучными клетками, эозинофилами, клетками плаценты, материнской децидуальной оболочкой, цитотрофобластом, эндотелиальными клетками матери и плода. Прогестерон, повышая синтез ИЛ-4, также ингибирует реакции Th1 в течение беременности. В процессе физиологической беременности уровень ИЛ-4 увеличивается, что обеспечивает нормальное развитие плода [22, 44, 81].

Являясь антагонистом дифференцировки CD4+ Th1 типа и продукции Th1 цитокинов, ИЛ-4 способствует поляризации антиген-стимулированных наивных Th-клеток в Th2-клетки-эффекторы, подавляет активность макрофагов и синтез провоспалительных цитокинов ИЛ-1, ФНО-α, ИЛ-6, то есть обладает противовоспалительным эффектом [20].

Одним из механизмов положительного влияния ИЛ-4 на развитие беременности является обеспечение наряду с ГМ-КСФ миграции моноцитов из периферической крови в эндометрий и их дифференцировку в толерогенные дендритные клетки, играющие важную роль в реализации репродуктивной функции [79]

Piccinni M. P. [81]; Persson M. [82]; Gui J. [83] в исследованиях на лабораторных животных установили, что уменьшение продукции ИЛ-4 может привести к спонтанным и индуцированным абортам.

Ключевым цитокином ранней беременности, участвующим в формировании плаценты, плацентарном ангиогенезе, регуляции трофобластической инвазии является интерлейкин ИЛ-10, который продуцируется клетками трофобласта на всех стадиях беременности [31, 41]. Наряду с этим ИЛ-10 вырабатывается субпопуляциями Т-клеток (Th1, Th2 и Th17), моноцитами, макрофагами, дендритными клетками, В-клетками, гранулоцитами, эозинофилами и тучными клетками, эпителиальными клетками и маточными NK-клетками. [39, 84, 85].

Экспериментальными исследованиями White C. A. [86] установлено, что ИЛ-10 экспрессируется в матке, яичниках и яйцеводах в течение эстрального цикла, во время беременности его продуцируют децидуальные клетки, а до середины беременности — плацента. Плацента-специфический гликопротеин 18, синтезируемый гигантскими клетками трофобласта, усиливает синтез ИЛ-10 в резидентных макрофагах.

Как отмечает Н. В. Колесникова [30] изменение содержания стероидных гормонов не оказывает влияния на количество ИЛ-10, секретируемого на уровне маточно-плацентарного барьера, при этом повышение концентрации провоспалительного ИЛ-1β индуцирует его существенное увеличение.

Защитное действие ИЛ-10 на фетоплацентарную единицу обусловлено подавлением воспалительной реакции за счет ингибирования пролиферации Th1 лимфоцитов [34], синтеза и секреции провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО-α, ИФН-γ и др.) макрофагами, хемокинов [31, 41, 87] и простогландинов [3, 31].

ИЛ-10 способствует дифференциации Th-0 клеток в Th-2/Th-3 фенотипы и усиливает их функциональную активность. На клетках трофобласта ИЛ-10 повышает экспрессию HLA-G молекул, необходимых для успешной имплантации эмбриона и поддержании активности Th-2 клеток [3, 88]. В тоже время, в исследованиях Артемьевой [20] отмечено, что ИЛ-10 относится к плейотропному

типу цитокинов, поскольку обладает как стимулирующей, так иммуносупрессорной активностью.

Снижение уровня 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 [41].

Важную роль в развитии плаценты и плода играет трансформирующий фактор роста-β (ТФР-β), локализующийся в плаценте, децидуальной ткани, плодовых оболочках [29]. Источником ТФР-β являются популяции децидуальных NK-клеток с фенотипом CD56 + CD3 и клетки Th3, моноциты и макрофаги, снижение его уровня может вызывать прерывание беременности. [21]

ТФР-β оказывает выраженное ингибирующее действие на процессы синтеза ДНК клетками трофобласта и регулирует процессы его инвазии, подавляет синтез ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО-β, снижает продукцию простагландинов в амнионе и децидуальных клетках, контролирует клеточный рост, адгезию и дифференцировку Т- и В-лимфоцитов матери и плода, а также активность макрофагов. [21, 89].

В работе Глуховой [21] отмечается выраженная способность цитокина регулировать процессы репарации, он потенцирует ростстимулирующие эффекты у большинства мезенхимальных клеток и одновременно блокирует рост эпителиальных клеток. Установлено, что ТФР-β угнетает пролиферативные процессы в клетках плаценты и лимфоцитах, что ограждает организм беременной от злокачественной инвазии трофобласта. На макрофагальные и лимфоидные клетки ТФР-β оказывает выраженное депрессивное действие, непосредственно связываясь со специфическими рецепторами, экспрессированными на их поверхности.

Анализ данных литературы о цитокиновом балансе позволяет заключить, что про- и противовоспалительные цитокины выполняют важную роль в подготовке эндометрия к имплантации эмбриона и в дальнейшем сохранении беременности. Физиологическая беременность ассоциирована с доминированием противовоспалительных цитокинов, вырабатываемых Т-клетками Th2/Th3, а активация провоспалительных медиаторов, синтезируемых Th1-клетками, приводит к срыву толерантности и ее прерыванию [21, 29, 90]. Однако исследованиями ряда авторов отмечено, что выявление в крови повышенного содержания Th1 цитокинов не всегда коррелирует с неблагоприятным течением и исходом беременности и, наоборот, при патологии может отмечаться высокий уровень Th2/Th3 цитокинов [2, 18, 91]. Высказываются сомнения в необходимости четкого деления Т-хелперов на подтипы, поскольку Т-клетки демонстрируют широкое разнообразие «цитокиновых профилей» [2, 92, 93]. Решающее значение при этом имеет не отклонение показателей от нормы, а дисбаланс в структуре взаимодействия интерлейкинов. Оценка продукции цитокинов при беременности позволяет уточнить физиологические механизмы, определяющие защиту плода, выявить маркеры нарушений цитокинового баланса при патологии беременности [30].

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Каштальян О. А.* Особенности иммунной системы беременных // Вопросы организации и информатизации здравоохранения. — 2008. — № . 1. — С. 45—50.

2. *Нефедова Д. Д.* Иммунологические аспекты беременности (обзор литературы) / Д. Д. Нефедова, В. А. Линде, М. А. Левкович // Медицинский вестник Юга России. — 2013. — № . 4. — С. 16—21

3. *Павлюченко И. И.* Состояние системы антиоксидантной защиты и цитокиновый профиль крови в различные сроки физиологически протекающей беременности / И. И. Павлюченко, О. С. Безрукова, В. Я. Зобенко, В. Я. Есауленко, А. А. Басов, А. П. Сторожук // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. — 2020. — Т. 10. — № . 2. — С. 40—47

4. *Сухих Г. Т.* Иммунные факторы в этиологии и патогенезе осложнений беременности / Г. Т. Сухих, Л. В. Ванько //Акушерство и гинекология. — 2012. — № . 1. — С. 128—136.

5. *Хонина Н. А.* Нарушение механизмов активной иммуносупрессии при беременности, осложненной гестозом / Н. А. Хонина, А. В. Дударева, М. А. Тихонова, О. Ю. Леплина, А. А. Останин, Н. М. Пасман, Е. Р. Черных // Сибирский научный медицинский журнал. — 2003. — № . 3. — С. 74—78.

6. *Шестопалов А. В.* Уровень провоспалительных (ИЛ-1, ФНОα) и противовоспалительных (ИЛ-1РА, ТФРβ) цитокинов у женщин с физиологической беременностью, родоразрешенных путем кесарева сечения / А. В. Шестопалов, Ю. А. Мирошниченко, А. Н. Рымашевский, Н. М. Добаева // Фундаментальные исследования. — 2014. — № . 4—2. — С. 402—406.

7. *Abbas A. K.* Balancing autoaggressive and protective T cell responses/ A. K. Abbas, J. Lohr, B. Knoechel // J Autoimmun. — 2007. — Is.28. — P. 59—61.

8. *Allan S. E.* CD4+ T-regulatory cells: toward therapy for human diseases / S. E. Allan, R. Broady, S. Gregori // Immunol Rev. — 2008. — Is. 223. — P. 391—421

9. *Dobaño C.* Blood cytokine, chemokine and growth factor profiling in a cohort of pregnant women from tropi-

cal countries / C. Dobaño, A. Bardají, S. Kochar et al. // Cytokine. — 2020. — Vol. 125. — 154 818. — 11 p.

10. *Mohapatra S. K.* Implantation associated changes in expression profile of indoleamine-2, 3-dioxygenase 1, Th1-Th2 cytokines and interferon-stimulated genes on neutrophils and peripheral blood mononuclear cells of crossbred cows / S. K. Mohapatra, B.S.K. Panda, A. K. Verma, R. Kapila, A. K. Dang // Journal of Reproductive Immunology. — 2020. — Vol. 142. — 103 188. — 8 p.

11. *Амирова Ж. С.* Система цитокинов у беременных с персистирующей и рецидивирующей угрозой прерывания беременности / Ж. С. Амирова // Вестник новых медицинских технологий. — 2006. — № . 4. — С. 66—67.

12. *Гаджиева Ф. Р.* Система цитокинов как ранние маркеры невынашивания беременности / Ф. Р. Гаджиева // Биомедицина (Баку). — 2010. — № . 3. — С. 16—19

13. *Каштальян О. А.* Цитокины как универсальная система регуляции / О. А. Каштальян, Л. Ю. Ушакова // Медицинские новости. — 2017. — № . 9. — С. 3—7

14. *Quinn K. H.* Decidual regulatory T cells in placental pathology and pregnancy complications / K. H. Quinn, M. M. Parast // Am. J. Reprod. Immunol. — 2013. — Vol. 69. — Is. 6. — P. 533—538.

15. *Боташева Т. Л.* Ангиогенные факторы и цитокины у женщин при физиологической и осложненной беременности в зависимости от пола плода / Т. Л. Боташева, В. А. Линде, Н. В. Ермолова, А. В. Хлопонина, О. Д. Саргсян, В. В. Баринова // Таврический медико-биологический вестник. — 2016. — Т. 19. — № . 2. — С. 22—27.

16. *Друккер Н. А.* Роль дисбаланса регуляторных полипептидов в развитии угрозы прерывания беременности у женщин с плацентарной недостаточностью / Н. А. Друккер, Т. Н. Погорелова, И. И. Крукиер, А. С. Дегтярева // Современные проблемы науки и образования. — 2012. — № . 6. — С. 205—205.

17. *Дубоссарская З. М.* Клеточно-молекулярные диалоги в эндометрии и плаценте при физиологической и патологической беременности (обзор литературы) / З. М. Дубоссарская // Жіночий лікар. — 2012. — № . 3. — С. 34—38.

18. *Chaouat G.* Th1/Th2 paradigm in pregnancy: paradigm lost? Cytokines pregnancy/early abortion: reexaming the Th1/Th2 paradigm / G. Chaouat, N. Ledee-Bataille, S. Dubanchet // Int. Arch. Allergy Immunol. — 2004. — Vol.13. — P. 93—119.

19. *Chatterjee P.* Regulation of the anti-inflammatory cytokines interleukin-4 and interleukin-10 during pregnancy / P. Chatterjee, V. L. Chiasson, K. R. Bounds, B. M. Mitchell // Frontiers in immunology. — 2014. — Vol. 5. — P. 253.

20. *Артемьева К. А.* Морфофункциональные изменения органов иммунной системы и плаценты при спонтанных и мурамилдипептид-индуцированных абортах у мышей / Дисс. … канд. мед. маук. по спец. 03.03.04. Артемьева Ксения Александровна — Москва. — 2017. — 152 с.

21. *Глухова Т. Н.* Современные представления о патогенезе гестоза как совокупности типовых патологических процессов и патологических состояний, осложняющих течение беременности / Т. Н. Глухова, Н. П. Чеснокова, И. Е. Рогожина, О. Н. Сергеева // Научное обозрение. Медицинские науки. — 2016. — № . 2. — С. 12—32.

22. *Круглякова М. В.* Характеристика цитокинового профиля при физиологической и осложненной беременности / М. В. Круглякова, О. В. Смирнова, Н. М. Титова // Культура. Наука. Образование: проблемы и перспективы. — IX Международная научно-практическая конференция. НВГУ. — 2021. — С. 549—555

23. *Соколов Д. И.* Роль цитокинов в контроле развития плаценты в норме и при гестозе / Д. И. Соколов, М. В. Лесничая, А. В. Селютин // Иммунология. — 2009. — No1. — С. 22—27.

24. *Хонина Н. А.* Особенности продукции цитокинов при физиологической и осложненной беременности / Н. А. Хонина, Н. М. Пасман, А. А. Останин, Е. Р. Черных // Акуш. и гин. — 2006. — № 2. — С. 11—15.

25. *Ширшев С. В.* Механизмы иммунноэндокринного контроля процессов репродукции / С. В. Ширшев // Екатеринбург. — 2002. — Т. 2. — 557 с.

26. *Chen S. J.* Immunologic regulation in pregnancy: from mechanism to therapeutic strategy for immunomodulation / S. J. Chen, Y. L. Liu, H. K. Sytwu // Clin Dev Immunol. 2012. — Vol. 2012. — P. 258 391.

27. *Murphy S. P.* Interferon gamma in successful pregnancies / S. P. Murphy, C. Tayade, A. A. Ashkar, K. Hatta, J. Zhang, B. A. Croy // Biology of reproduction. — 2009. — Т. 80. — № . 5. — С. 848—859.

28. *Saito S.* Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy / S. Saito, A. Nakashima, T. Shima, M. Ito // American journal of reproductive immunology. — 2010. — Т. 63. — № . 6. — С. 601—610.

29. *Вероповетлян П. Н.* Цитокины в системе мать-плацента-плод при физиологическом и патологическом течении беременности / П. Н. Веропотвелян, Н. П. Веропотвелян, И. В. Гужевская // Здоровье женщины. — 2013. — № . 1. — С. 126—129.

30. *Колесникова Н. В.* Цитокиновый статус беременных с хронической фетоплацентарной недостаточностью (Обзор литературы) / Н. В. Колесникова // Российский иммунологический журнал. — 2010. — № . 4(13). — С. 343—351.

31. *Проходная В. А.* Цитокиновый профиль ротовой и десневой жидкости у беременных женщин / В. А. Проходная, С. О. Сурменева, Е. Х. Чибичян, А. Ю. Косых // Российский стоматологический журнал. — 2017. — № . 21 (4). — С. 194—197.

32. *Наровлянский А. Н.* Интерфероны: перспективные направления исследований / А. Н. Наровлянский,

Ф. И. Ершов, А. Л. Гинцбург // Иммунология. — 2013. — Т. 34. — № . 3. — С. 168—172.

33. *Liu H.* Increased expression of IFN-γ in preeclampsia impairs human trophoblast invasion via a SOCS1/JAK/STAT1 feedback loop / H. Liu, W. Wang, C. Liu // Experimental and Therapeutic Medicine. — 2021. — Vol. 21. — Is.112. — 12 p.

34. *Погорелова Т. Н.* Молекулярные механизмы регуляции метаболических процессов в плаценте при физиологически протекающей и осложненной беременности / Т. Н. Погорелова, В. А. Линде, И. И. Крукиер, В. О. Гунько, Н. А. Друккер // — СПб.: Гиппократ. — 2011. — 304 с.

35. *Opal S. M.* Anti-Inflammatory cytokines / S. M. Opal, V. A. DePalo // Impact of Basic Research on Tomorrow's Medicine. — 2000. — Vol. 117. — Is.4. — P. 1162—1171.

36. *Баев О. Р.* Ранние этапы становления мать — плацента — плод / О. Р. Баев, Н. В. Александрова // Журнал Акушерство и гинекология. — 2011. — № .8. — С. 4—8.

37. *Безрукова О. С.* Общая антиоксидантная активность, уровень фермента первой линии антиоксидантной защиты супероксиддисмутазы и противовоспалительного цитокина ИЛ-10 плазмы крови у беременных в различные сроки беременности / О. С. Безрукова, И. И. Павлюченко, Е. А. Коков, В. Я. Зобенко, Е. Е. Есауленко // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. — 2019. — Т. 9. — № .3. — С. 6—12.

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

39. *Thaxton J. E.* Interleukin-10: a multi-faceted agent of pregnancy / J. E. Thaxton, S. Sharma // Am J Reprod Immunol. — 2010. — Vol. 63. — P. 482—491

40. *Zhang Q. H.* Predominant Th2-type response during normal pregnancy of rats / Q. H. Zhang, Y. H. Huang, Y. Z. Hu, G. Z. Wei, S. Y. Lu, Y. F. Zhao // Sheng Li Xue Bao. — 2004. — Vol. 56. — P. 258—62.

41. *Левкович М. А.* Иммунологические аспекты проблемы невынашивания беременности / М. А. Левкович, Д. Д. Нефедова, Л. Д. Цатурян, Е. М. Бердичевская // Современные проблемы науки и образования. — 2016. — № . 3. — С. 186—186.

42. *Петров Ю. А.* Иммунологические аспекты невынашивания беременности / Ю. А. Петров, И. Г. Арндт, А. С. Бахтина // Главврач Юга России. — 2021. — № .1 (76). — С. 38—41

43. *Dekel N.* Inflammation and implantation / N. Dekel, Y. Gnainsky, I. Granot, G. Mor // Am.J. Reprod. Immunol. — 2010. — Vol. 63. — P. 17—21.

44. *Левкович М. А.* Современные представления о роли цитокинов в генезе физиологического и патологического течения беременности / М. А. Левкович // Рос. вестник акуш. — гинек. — 2008. — № . 3. — Том 8. — С. 37—40.

45. *Радзинский В. Е.* Ранние сроки беременности / В. Е. Радзинский, А. А. Оразмурадов // М.: StatusPraesens. — 2009. — 480 с.

46. *Севостьянова О. Ю.* Иммунный гомеостаз в динамике неосложненной беременности / О. Ю. Севостьянова, С. Н. Теплова, В. Е. Радзинский // Вестник РУДН. — 2005. — № .4 (32). — С. 39—43

47. *Ширшев С. В.* Антенатальная аутоэкология / С. В. Ширшев //Российский иммунологический журнал. — 2010. — Т. 4. — № . 4. — С. 306—320.

48. *Xia H.* Effects of IL-1 beta on RT1-A/RT1-DM at thematernal-fetal interface during pregnancy in rats / H. Xia, J. Peng, Q. Sun, Y. Yang, M. Liu // Front Biosci. — 2006. — Vol. 11. — P. 2868—2875.

49. *Dinarello C.* The IL-1 family and inflammatory diseases / C. Dinarello // Clin Exp Rheumatol. — 2002. — Vol. 20. — Is. 1. — P. 170—177.

50. *Raghupathy R.* Cytokine production by maternal lymphocytes during normal human pregnancy and in unexplained recurrent spontaneous abortion / R. Raghupathy, M. Makhseed, F. Azizieh, A. Omu, M. Gupta, R. Farhat // Hum Reprod. — 2000. — Vol. 15. — Is. 3. — P. 713—718.

51. *Chan C. C.* A correlation of pregnancy term, dis ease activity, serum female hormones, and cytokines in uveitis / C. C. Chan, G. F. Reed, Y. Kim, E. Agrón, R. R. Buggage // Brit J Ophthal. — 2004. — Vol. 88. — P. 1506—1509.

52. *Ashton S. V.* Uterine spiral artery remodeling involves endothelial apoptosis induced by extravillous tropho-blasts through Fas/FasL interactions / S. V. Ashton, G. S. Whitley, P. R. Dash, M. Wareing, I. P. Crocker, P. N. Baker, J. E. Cartwright // Arterioscler Thomb Vase Biol. — 2005. — Vol. 25. — Is. 1. — P. 102—108.

53. *Сухих Г. Т.* Иммунные механизмы в физиологии и патологии беременности / Г. Т. Сухих, Л. В. Ванько // Иммунология. — 2005. — № .9 (2). — С. 103—108.

54. *Staszewski-Chavez, S.* The role of apoptosis in the regulation of trophoblast survival and differentiation during pregnancy / S. Staszewski-Chavez, V. Abrahams, G. Mor // Endocr. Rev. — 2005. — Vol. 10. — Is. 1. — P. 210—221.

55. *Seeber B.* Proteomic analysis of serum yields six candidate proteins that regulated in a subset of women with endometriosis / B. Seeber, M. D. Sammel, X. Fan, G. L. Gerton, A. Shaunik, J. Chittams, K. T. Barnhart // Fertil. Steril. — 2010. — Vol.93. — P. 2137—2144

56. *Кетлинский С. А.* Цитокины / С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев // — СПб.: ООО Изд-во «Фолиант». — 2008. — 552 с.

57. *Чистякова Г. Н.* Иммунологические аспекты взаимоотношений организмов матери и плода при физиологически и патологически протекающей беременности / Г. Н. Чистякова // Вестник Уральской медицинской академической науки. — 2009. — № . 4. — С. 59—62.

58. *Le Bon, A.* Type I interferons potently enhance humoral immunity and can promote isotype switching dendritic cells in vivo / Le *Bon A.*, *Schiavoni G.*, G. D'Agostino, I. Gresser, F. Belardelli, D. F. Tough // Immunity. — 2001. — Vol. 14. — P. 461—470.

59. *Lellem A.* Inhibition by IL-12 IFN-alpha of I-309 and macrophage-derived chemokine production upon ECK triggering of human Thl cells / A. Lellem, L. Colantonio, S. Bhakta, S. Sozzani, A. *Mantovan F.* Sinigaglia, D. D'Ambrosioi // Eur. J. Immunol. — 2000. — Vol. 30. — P. 1030—1039.

60. *Balasa R.* Assessment of Interleukin-17A, Interleukin-10 and transforming growth factor-beta1 serum titers in relapsing remitting multiple sclerosis patients treated with avonex, possible biomarkers for treatment response / R. Balasa, S. Maier, S. Voidazan, A. Hutanu, Z. Bajko, A. Motataianu, B. Tilea, C. Tiu // CNS Neurol Disord Drug Targets. — 2017. — Is.16 (1). — P. 93—101

61. *Tao Y.* Immunologic and MRI markers of the therapeutic effect of IFN-β-1a in relapsing-remitting MS / Y. Tao, X. Zhang, R. Zivadinov, M. G. Dwyer, C. Kennedy et al. // Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm. — 2015. — Is. 2 (6). — e176.

62. *Yen J. H.* IFN-beta inhibits dendritic cell migration through STAT-1-mediated transcriptional suppression of CCR7 and matrix metalloproteinase 9 / J. H. Yen, W. Kong, D. Ganea // J Immunol. — 2010. — Is. 184 (7). — P. 3478—3486.

63. *Lash G. E.* Interferon-gamma inhibits extravillous trophoblast cell invasion by a mechanism that involves both changes in apoptosis and protease levels / G. E. Lash, H. A. Otun, B. A. Innes, M. Kirkley, L. De Oliveira, R. F. Searle, S. C. Robson, J. N. Bulmer // The FASEB journal. — 2006. — Vol. 20. — Is.14. — P. 2512—2518.

64. *Zhang J. H.* Analysis of cytokine regulators inducing interferon production by mouse uterine natural killer cells / J. H. Zhang, H. He, A. Borzychowski, K. Takeda, S. Akira, B. A. Croy // Biol Reprod. — 2003. — Vol. 69. — P. 404—411.

65. *Степанович М. Ю.* Цитокины как нейромодуляторы в центральной нервной системе / М. Ю. Степанович // Биохимия. — 2005. — № . 22. — С. 5—11.

66. *Casart Y.* Serum levels of interleukin-6, interleukin-1beta and human chorionic gonadotropin in pre-eclamptic and normal pregnancy / Y. Casart, K. Tarrazzi, M. Camejo // Gynec Endocr. — 2007. — Vol. 23. — Is. 5. — P. 300—320.

67. *Crocker I.* Differences in apoptotic susceptibility of cytotrophoblasts and syncytiotro — phoblasts in normal pregnancy to those complicated with preeclampsia and intrauterine growth restriction / I. Crocker, S. Cooper, S. Ong, P. N. Baker // Am J Pathol. — 2003. — Vol. 162. — Is. 2. — P. 637—643

68. *Mor G.* Role of the Fas/Fas ligand system in female reproductive organs: survival and apoptosis / G. Mor, S. Staszewski, M. Kamsteeg // Biochem Pharmacol. — 2002. — Vol. 64. — Is. 9. — P. 1305—1315

69. *Uciechowski P.* Interleukin-6: a masterplayer in the cytokine network / P. Uciechowski, W. C. M. Dempke // Oncology. — 2020. — Vol. 98. — Is.3. — P. 131—137.

70. *Margni R.* During pregnancy, in the context of a Th2-type cytokine profile, serum IL-6 levels might condition the quality of the syn thesized antibodies / R. Margni, A. Zenclussen // Am J Reprod Immumjil. — 2001. — Vol. 46. — Is. 3. — P. 181—187.

71. *Сотникова Н. Ю.* Продукция цитокинов децидуальными макрофагами при физиологической беременности и синдроме задержки внутриутробного развития плода / Н. Ю. Сотникова // Цитокины и воспаление. — 2006. — № .5 (1). — С. 16—20.

72. *Collins M. K.* Dendritic cell entrapment within the pregnant uterus inhibits immune surveillance of the maternal/fetal interface in mice / M. K. Collins, C. S. Tay, A. Erlebacher // J. Clin. Invest. — 2009. — Vol. 119. — P. 2062—2073.

73. *Caballero-Campo, P.* Hormonal and embryonic regulation of chemokines IL-8, MCP-1 and RANTES in the human endometrium during the window of implantation / P. Caballero-Campo, E. Dominguez, J. Coloma, M. Meseguer, J. Remohí, A. Pellicer, C. Simón // Mol Hum Reprod. — 2002. — Vol. 8. — P. 375—384.

74. *Dijkstra K.* Matrix metallopro teinase-1 and –9 in cervicovaginal fluid from women during pregnancy and in labor / K. Dijkstra, E. Kuszynski, C. J. Lockwood, G. H. A. Visser // Prenat Neonat Med. — 2001. — № . 6. — С. 122—128.

75. *Пицхелаури Е. Г.* Возможности прогнозирования развития преэклампсии с ранних сроков беременности у пациенток после вспомогательных репродуктивных технологий / Е. Г. Пицхелаури, А. Н. Стрижаков, Н. А. Богачева, Т. Е. Кузьмина // Акушерство, Гинекология и Репродукция. — 2019. — № 13(4). — С. 305—312.

76. *Robertson S. A.* Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM—CSF) targets myeloid leukocytes in the uterus during the post-mating inflammatory response in mice / S. A. Robertson, A. C. O'Connell, S. N. Hudson, R. F. Seamark // J Reprod Immunol. — 2000. — Vol. 46(2). — P. 131—54.

77. *Paiva P.* Human chorionic gonadotrophin regulates FGF2 and other cytokines produced by human endometrial epithelial cells, providing a mechanism for enhancing endometrial receptivity / P. Paiva, N. J. Hannan, C. Hincks, K. L. Meehan, E. Pruysers, E. Dimitriadis, L. A. Salamonsen // Hum. Reprod. — 2011. — Vol. 26 (5). — P. 1153—1162.

78. *Robertson S. A.* Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor promotes glucose transport and blastomere viability in murine preimplantation embryos / S. A. Robertson, C. Sjöblom, M. J. Jasper, R. J. Norman, R. F. Seamark // Biol Reprod. — 2001. — Vol. 64(4). — P. 1206—15.

79. *Lee J. Y.* Role of endometrial immune cells in implantation / J. Y. Lee, M. Lee, S. K. Lee // Clin Exp Reprod Med. — 2011. — Vol. 38(3). — P. 119—125.

80. *Moldenhauer L. M.* GM—CSF is an essential regulator of T cell activation competence in uterine dendritic cells during early pregnancy in mice / L. M. Moldenhauer, S. N. Keenihan, J. D. Hayball, S. A. Robertson // Journal of Immunology. — 2010. — Vol. 185(11). — P. 7085—7096.

81. *Piccinni M. P.* T cells in normal pregnancy and recurrent pregnancy loss / M. P. Piccinni // Reprod Biomed Online. — 2007. — Vol. 14(1). — P. 95—9.

82. *Persson M.* Immunological status in patients undergoing in vitro fertilisation: responses to hormone treatment and relationship to outcome / M. Persson, C. Ekerfelt, B. Jablonowska, Y. Jonsson, J. Ernerudh, M. C. Jenmalm, G. Berg // J Reprod Immunol. — 2012. — Vol. 96(1—2). — P. 58—67.

83. *Gui J.* Effects of acupuncture on Th1, Th2 cytokines in rats of implantation failure. / J. Gui, F. Xiong, J. Li, G. Huang // Evid Based Complement Alternat Med. — 2012. — Vol. 2012. — P. 893 023.

84. *Kumar A.* IL-10, TNF-α & IFN-γ: potential early biomarkers for preeclampsia / A. Kumar, N. Begum, S. Prasad, S. Agarwal, S. Sharma // Cellular immunology. — 2013. — Vol. 283. — Is.1—2. — P. 70—74.

85. *Mosimann B.* Maternal serum cytokines at 30—33 weeks in the prediction of preeclampsia / B. Mosimann, M. Wagner, L. C. Y. Poon, A. S. Bansal, K. H. Nicolaides // Prenatal diagnosis. — 2013. — Vol. 33. — Is. 9. — P. 823—830.

86. *White C. A.* Effect of interleukin-10 null mutation on maternal immune response and reproductive outcome in mice / C. A. White, M. Johansson, C. T. Roberts, J. R. Alistair, S. A. Robertson // Biology of Reproduction. — 2004. — Vol. 70(1). — P. 123—131.

87. *Brogin M. J.* Interleukin 10 and tumor necrosis factor-alpha in pregnancy: aspects of interest in clinical obstetrics / J. B. Moreli, A. M. Cirino Ruocco, J. M. Vernini, M. V. Rudge, I. M. Calderon // ISRN Obstet Gynecol. — 2012. — Vol. 2012. — e 230 742.

88. *Brown M. B.* M1/M2 macrophage polarity in normal and complicated pregnancy / M. B. Brown, M. von Chamier, A. B. Allam, L. Reyes // Front Immunol. — 2014. — Vol. 5 — P. 606—616

89. *Matsumura T.* TGF-α down-regulates IL-l, induced TLR2 expression in murine hepatocytes / T. Matsumura, H. Hayashi, T. Takii, C. F. Thorn, A. S. Whitehead, J. Inoue, K. Onozaki // J Leukocyte Biol. — 2004. — Vol. 75. — P. 1056—1061.

90. *Кущ О. Г.* Дослідження PLA-лімфоцитів — хелперів в децидуальній тканині матки породіль / О. Г. Кущ // Український морфологічний альманах. — 2010. — No. 2. — С. 118—120.

91. *Казимирко Н. К.* Роль иммунной системы при физиологической беременности / Н. К. Казимирко, Д. П. Татаренко, О. А. Котова // Загальна патологія та патологічна фізіологія. — 2013. — Т. 8. — № 2. — С. 13—27.

92. *Посисеева Л. В.* Иммунология беременности / Л. В. Посисеева, Н. Ю. Сотникова // Акушерство и гинекология. — 2007. — № . 5. — С. 42—45.

93. *Ogawa K.* Activin a functions as a Th2 cytokine in the promotion of the alternative activation of macrophages / *K. Ogawa* // Immunol. — 2006. — Vol.177. — N.10. — P. 6787—6794

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Л. Ю. Сашнина — доктор ветеринарных наук, заведующая лабораторией;
А. Г. Шахов — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник;
Ю. Ю. Владимирова — младший научный сотрудник;
Г. В. Никоненко — младший научный сотрудник.

Статья поступила в редакцию 27.06.2022 г.

Review
UDC 612.017:618

ROLE OF CYTOKINES IN A PHYSIOLOGICAL COURSE OF PREGNANCY

Larisa Yuryevna Sashnina✉, Aleksey Gavrilovich Shakhov, Yuliya Yuryevna Vladimirova, Galina Vasilyevna Nikonenko

All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia, l.yu.sashnina@mail.ru✉

Abstract. The article presents an overview of scientific data on the role of pro- and anti-inflammatory cytokines, chemokines and costimulatory factors in case of physiological pregnancy. Considerable attention is paid to the participation of cytokines in the regulation of the relationship between mother and fetus. The mechanisms of the inflammatory response at an early stage of pregnancy, which is necessary to ensure implantation and development of the embryo, are considered. In case of a normal course of pregnancy, the cytokine balance shifts towards immunosuppressive Th2-cytokines, which inhibit cellular immunity reactions and stimulate progesterone, chorionic gonadotropin and the production of blocking antibodies.
Keywords: pregnancy, cytokines, immunosuppression, interferons, T-lymphocytes

Physiological pregnancy is characterized by a state of local immunosuppression and adaptive changes aimed at creating optimal conditions for the growth and development of the fetus [1—10]. Structural and functional restructuring in the immune system of the mother's body is associated with natural (physiological) immunodeficiency, which prevents the rejection of a half-foreign fetus [11—13].

Immunosuppression, which is one of the mechanisms for inducing tolerance to fetal alloantigens, is due to a decrease in the activity of macrophages, neutrophils, natural killers, activation of T-suppressors, as well as a change in the balance of cytokines involved in the regulation of the ratio of immunomodulatory and immunosuppressive effects in the endometrium, trophoblast, and subsequently in the placenta [11, 14—19], and providing a physiological level of coexistence of genetically alien organisms of the mother and fetus [20—28].

Cytokines produced by the cells of the lymphomyeloid complex act as autocrine and paracrine regulators (mediators) of the hypothalamic-pituitary system and are involved in the processes of fertilization, implantation and placentation [24, 25; 29—31].

According to the theory of immunotrophism, the success of pregnancy prolongation depends on the balance of pro-inflammatory Th1 (IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, TNF-α, IFN-α, IFN-β, IFN-γ, chemokines — IL-8, monocytic chemotoxic factor, etc.) and anti-inflammatory Th-2/Th3 cytokines (IL-4, IL-10, TGF-β, etc.) [2, 22, 32, 33] that are mediators of intercellular communications and form a multicomponent system of molecular and cellular regulation of the processes of development and functioning of the fetoplacental complex [6, 34, 35].

It has now been established that during a physiological course of pregnancy, the cytokine balance shifts towards immunosuppressive Th-2 cytokines, which inhibit cellular immunity reactions, stimulate the synthesis of progesterone and chorionic gonadotropin and the production of blocking antibodies [2, 36—40].

According to some authors, the initial period of pregnancy is manifested by a temporary inflammatory reaction with an increase in the expression of pro-inflammatory cytokines necessary for implantation and placentation, while neovascularization and blood supply processes in the endometrium are activated, blood vessels are formed to ensure adequate blood supply to the placenta and fetus [29, 41—43].

As it is known, the central mediator of local and systemic inflammatory reactions is IL-1 [29, 44, 45], which is produced mainly by macrophage cells at the stage of their activation, monocytes, fibroblasts and endothelial cells [21, 23, 24]. IL-1 is expressed by the trophoblast at the site of implantation and is involved in the pre- and implantation development of the embryo [46, 47]. At the initial stages of embryogenesis, under the effect of IL-1, an increase in the trophoblast

© Sashnina L. Yu., Shakhov A. G., Vladimirova Yu. Yu., Nikonenko G. V., 2022

adhesive properties is noted [48]. It should be noted that it selectively activates the processes of synthesis and secretion of protein-peptide and steroid hormones, releasing factors, the concentration of which has a significant effect on the pregnancy course. By enhancing the production of chorionic gonadotropin, the main hormone of pregnancy IL-1 inhibits the secretion of prolactin. Binding of IL-1 to its receptors in the mother's body promotes implantation and development of the fetus, stimulates the proliferation of cells that form the placental barrier.

Glukhova T. N. [21], Veropotvelyan P. N. [29], Xia H. [48] note that IL-1 plays a key role in the formation of humoral and cell-mediated immunity, is the most important monokine that carries out the processes of generation of effector and regulatory cells of the immune system, having a pronounced effect on the differentiation of immunocompetent cells. The change in the level of IL-1 may be the result of the interaction of the immune and endocrine systems.

The studies by C. Dinarello [49] have found that increased secretion of IL-1 can lead to an increase in the concentrations of tumor necrosis factor alpha (TNF-α), interferon-gamma (IFN-γ), IL-2, IL-12, which in turn can complicate the pregnancy course, and maintaining this cytokine at a low level is one of the factors contributing to its prolongation.

One of the main cytokines involved in the regulation of the immune response during pregnancy is IL-2, which is synthesized by type 1 T-helpers and, being an inducer of the secretion of immunopotentiating lympho- and monokines, is involved in the formation of both humoral and cellular mediated immune responses [29].

During pregnancy, the site of synthesis and secretion of IL-2 is the syncytiotrophoblast, in which the genes encoding its amino acid sequence are expressed [21, 23]. Khonina N. A. [24], Glukhova T. N. [21] note the ability of IL-2 to affect the trophism of placental cells and activate suppressor cells.

R. Raghupathy [50] believes that the presence of IL-2 is necessary for the processes of placentation, maturation and functioning of the trophoblast. The studies by C. Chan [51] have revealed that an increase in the production of IL-2 can lead to an increase in the production of other pro-inflammatory cytokines and complicate the pregnancy course.

A multifunctional cytokine with pro-inflammatory immunoregulatory properties is tumor necrosis factor-α (TNF-α). Its main producers are mononuclear phagocytes, lymphoid cells and placenta [21]. When exposed to immunocompetent cells, TNF-α induces the expression of major histocompatibility complex antigens, adhesion molecules, stimulates the production of interleukins IL-1, IL-6, colony-stimulating factors and prostaglandin F-2α [23, 24].

According to the results of a study by Ashton S. et al. [52], TNF-α hypersecretion leads to a significant increase in the number of apoptotic trophoblast cells, which may be one of the factors contributing to pregnancy complications. G. T. Sukhikh [53] has found that TNF-α activates natural killer cells (NK cells) capable of lysing the trophoblast.

According to Staszewski-Chavez S. et al. [54] considerable attention is paid to the role of tumor necrosis factor-α in the regulation of placental cell apoptosis. An increase in its concentration induces inhibition of proliferation and apoptosis of endothelial cells, causing a violation of microcirculation in the placental tissue [55].

Type 1 interferons, IFN-α and IFN-β, belong to cytokines that have predominantly depressant effects. The source of IFN-α is NK cells, T- and B-lymphocytes, dendritic cells, monocytes, macrophages, etc. [56—59].

IFN-α enhances the production of progesterone by corpus luteum, acts as an inducer of cortisol and chorionic gonadotropin during pregnancy and simultaneously blocks the synthesis of prostaglandin F2α, which determines the physiological development of pregnancy, prolonging the processes of implantation and placentation of the zygote [21, 47]. Possessing a pronounced immunoregulatory effect, it increases the cellular cytotoxicity of T-lymphocytes and NK cells and inhibits the proliferative activity of lymphocytes [58, 59].

IFN-β is synthesized by fibroblasts and epithelial cells [56]. The mechanism of its action is associated with a change in the balance of pro- and anti-inflammatory factors, in particular, suppression of the production of pro-inflammatory cytokines, interleukin-17, IFN-γ and an increase in the production of anti-inflammatory IL-10 [60—62].

An important role at the initial stage of implantation and embryonic development is played by IFN-γ, which blocks the development of a Th2-type response, inhibits the synthesis of IL-4 and the proliferation of Th2 cells [29]. IFN-γ is produced by decidual NK cells and has immunoregulatory, antiproliferative and proapoptotic properties [22, 33, 57, 63, 64].

The molecular mechanisms of action are due to its ability to inhibit trophoblast proliferation and simultaneously suppress the production of GM—CSF, which is its growth factor. In addition, IFN-γ stimulates NK cells and cytotoxic T-lymphocytes, forming lymphokine-activated killer cells with the potential

to damage the trophoblast and suppress its hormonal function [44].

In the pathological course of pregnancy, hyperfunction of Th1 cells producing pro-inflammatory cytokines, including IFN-γ, is possible, which can lead to excessively pronounced inflammatory reactions in the body, especially when infectious agents persist [29].

A low level of IFN-γ during pregnancy provides the advantage of suppressor activation over helper activation that prevents fetal rejection [65].

IL-6 along with other placental cytokines is synthesized by T and B lymphocytes, endothelial cells, fibroblasts, monocytes and macrophages, as well as trophoblasts [21, 24, 29, 66]. It has been established that IL-6 produced by trophoblast cells activates the production of choriogonic gonadotropin [67, 68].

On the one hand, together with IL-1 and TNF-α, it implements the rearrangement of the maternal endocrine system, and on the other hand, it controls immune responses in the fetoplacental zone [21].

It should be noted that IL-6, being a regulator of the reactions of the acute phase of inflammation and hematopoiesis, acts as a mediator of protective processes against infection and tissue damage. Under infectious effect, IL-6 induces the synthesis of acute phase proteins in the liver, which contributes to an increase in the level of prostaglandins and premature development of labor [24, 29, 69].

The studies by Margni R., Zenclussen A. [70] have found that IL-6 inhibits the production of IL-1 and TNF-α, thereby providing an anti-inflammatory effect.

A decrease in the production of IL-6 in pregnant women may be one of the pathogenetic factors for the suppression of immunosuppressive reactions and the disruption of the mother's immunological tolerance to fetal antigens [21].

An elevated level of IL-6 is a marker for predicting preterm labor. Veropotvelyan et al. [29] note that IL-6, apparently, activates neutrophil granulocytes, macrophages to the local production of pro-inflammatory cytokines, prostaglandins, NO, which contribute to the process of maturation and opening of the cervix, and similarly IL-1 increases the expression of oxytocin receptors on endometrial cells.

During a physiological course of pregnancy, the IL-8 chemokine produced by macrophages, fibroblasts, endothelial and epithelial cells of the endometrium plays an important role throughout its entire duration. Its synthesis is enhanced under the effect of IL-1 or TNF-γ [31, 41, 71, 72], and in the secretory phase of the cycle it decreases under the effect of an increase in the concentration of progesterone.

IL-8 provides angiogenesis and protection of the placental membranes, takes part in the regulation of the maturation of the cervix and the onset of labor [31, 73] causing the migration of neutrophilic granulocytes from the bloodstream and activating the release of collagenase and elastase, enzymes that break down the extracellular matrix produced by cervical fibroblasts [74].

Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM—CSF) has a significant importance in reproductive function, including in folliculogenesis, ovulation, endometrial and placental functions [20, 75]. It is produced by endothelial cells, fibroblasts, macrophages and lymphocytes, as well as by epithelial cells of the reproductive tract under the effect of steroid hormones [20].

In addition to regulating the differentiation and functions of immune cells, GM—CSF attracts leukocytes to the endometrium [76]. GM—CSF secreted into the uterine cavity promotes adhesion of preimplantation blastocytes, subsequent growth of the trophoblast and its invasion by increasing the expression of adhesion molecules, enhancing the production of proteases and other cytokines [77, 20].

In the experiments on mice, it has been found that GM—CSF enhances glucose metabolism, proliferation of blastocyst cells and increases the viability of the pre-implantation embryo [78]. In addition, during pregnancy, GM—CSF plays a significant role in the formation of immunotolerance to the fetus through the modulation of the activity of antigen-presenting dendritic cells and macrophages, which determine the severity of the T cell immune response. In the presence of GM—CSF and IL-4, monocytes migrating into the uterine mucosa differentiate into tolerogenic dendritic cells [79].

A decrease in GM—CSF production can affect the function of dendritic cells, shifting their phenotype from tolerogenic to activating Th1 cells and disrupting immunotolerance to the fetus at the early stages of pregnancy, which is observed in infertility and spontaneous abortions [80].

During physiological pregnancy, anti-inflammatory cytokines of the Th-2 type (IL-4, IL-10, TGF-β, etc.) play an important role. They promote placental formation, model trophoblast invasion and differentiation, induce placental proliferation and angiogenesis, and inhibit prostaglandin and monocyte production of pro-inflammatory cytokines [44].

Interleukin-4 is a regulator of growth, differentiation of B-lymphocytes and the process of antibody synthesis, and is found at the mother-fetus border at all stages of pregnancy [20, 22, 81]. IL-4 is produced

by activated CD4+ T-lymphocytes (Th2), mast cells, eosinophils, placental cells, maternal decidua, cytotrophoblast, maternal and fetal endothelial cells. Progesterone also inhibits Th1 responses during pregnancy by increasing IL-4 synthesis. During physiological pregnancy, the level of IL-4 increases, which ensures the normal development of the fetus [22, 44, 81].

Being an antagonist of the differentiation of CD4+ Th1 type and production of Th1 cytokines, IL-4 promotes the polarization of antigen-stimulated naive Th cells into Th2 effector cells, inhibits the activity of macrophages and the synthesis of pro-inflammatory cytokines IL-1, TNF-α, IL-6, then has an anti-inflammatory effect [20].

One of the mechanisms of the positive effect of IL-4 on the development of pregnancy is to ensure, along with GM—CSF, the migration of monocytes from the peripheral blood to the endometrium and their differentiation into tolerogenic dendritic cells, which play an important role in the implementation of the reproductive function [79].

Piccinni M. P. [81], Persson M. [82], Gui J. [83] in the studies on laboratory animals have found that a decrease in the production of IL-4 can lead to spontaneous and induced abortions.

The key cytokine of early pregnancy involved in the formation of the placenta, placental angiogenesis and regulation of trophoblastic invasion is interleukin IL-10, which is produced by trophoblast cells at all stages of pregnancy [31, 41]. Along with this, IL-10 is produced by subpopulations of T cells (Th1, Th2 and Th17), monocytes, macrophages, dendritic cells, B cells, granulocytes, eosinophils and mast cells, epithelial cells and uterine NK cells. [39, 84, 85].

Experimental studies of White C. A. [86] have found that IL-10 is expressed in the uterus, ovaries and oviducts during the estrous cycle, during pregnancy it is produced by decidual cells and until the middle of pregnancy — by the placenta. Placenta-specific glycoprotein 18, synthesized by trophoblast giant cells, enhances the synthesis of IL-10 in resident macrophages.

As N. V. Kolesnikova [30] notes, a change in the content of steroid hormones does not affect the amount of IL-10 secreted at the level of the uteroplacental barrier, while an increase in the concentration of pro-inflammatory IL-1β induces its significant increase.

The protective effect of IL-10 on the fetoplacental unit is due to the suppression of the inflammatory response by inhibiting the proliferation of Th1 lymphocytes [34], the synthesis and secretion of pro-inflammatory cytokines (IL-1, IL-6, TNF-α, IFN-γ, etc.) by macrophages, chemokines [31, 41, 87] and prostaglandins [3, 31].

IL-10 promotes differentiation of Th-0 cells into Th-2/Th-3 phenotypes and enhances their functional activity. On trophoblast cells, IL-10 increases the expression of HLA-G molecules required for successful embryo implantation and maintenance of Th-2 cell activity [3, 88]. At the same time, the studies by Artemyeva [20] have noted that IL-10 belongs to the pleiotropic type of cytokines, since it has both stimulating and immunosuppressive activity.

A decrease in the level of 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 [41].

An important role in the development of the placenta and fetus is played by transforming growth factor-β (TGF-β), which is localized in the placenta, decidual tissue and fetal membranes [29]. The source of TGF-β is the population of decidual NK cells with the CD56 + CD3 phenotype and Th3 cells, monocytes and macrophages. A decrease in its level can cause abortion. [21]

TGF-β has a pronounced inhibitory effect on the processes of DNA synthesis by trophoblast cells and regulates the processes of its invasion, inhibits the synthesis of IL-1, IL-6, IL-8, TNF-β, reduces the production of prostaglandins in the amnion and decidual cells, controls cell growth, adhesion and differentiation of T and B lymphocytes of the mother and fetus, as well as the activity of macrophages. [21, 89].

Glukhova [21] has noted a pronounced ability of the cytokine to regulate repair processes; it potentiates growth-stimulating effects in most mesenchymal cells and simultaneously blocks the growth of epithelial cells. It has been established that TGF-β inhibits proliferative processes in placental cells and lymphocytes, which protects the body of a pregnant woman from malignant trophoblast invasion. TGF-β has a pronounced depressive effect on macrophage and lymphoid cells, directly binding to specific receptors expressed on their surface.

An analysis of literature data on cytokine balance suggests that pro- and anti-inflammatory cytokines play an important role in the preparation of the endometrium for embryo implantation and then in the maintenance of pregnancy. Physiological pregnancy is associated with the dominance of anti-inflammatory cytokines produced by Th2/Th3 T cells and activation of pro-inflammatory mediators synthesized by Th1 cells leads to the breakdown of tolerance and its interruption [21, 29, 90]. However, the studies by a number of

authors have noted that the detection of an increased blood content of Th1 cytokines does not always correlate with an unfavorable course and outcome of pregnancy, and conversely, a high level of Th2/Th3 cytokines can be noted in pathology [2, 18, 91]. There are doubts about the need for a clear division of T-helper subtypes, since T cells show a wide variety of «cytokine profiles» [2, 92, 93]. In this case, it is not the deviation of indicators from the norm that is of decisive importance, but the imbalance in the structure of the interaction of interleukins. Assessment of cytokine production during pregnancy makes it possible to clarify the physiological mechanisms that determine the protection of the fetus, to identify markers of cytokine imbalance in pregnancy pathology [30].

REFERENCES

1. *Kashtalyan O. A.* Features of the immune system of pregnant women // Voprosy organizatsii i informatizatsii zdravookhraneniya (Issues of organization and informatization of health care). — 2008. — no. 1. — P. 45—50.

2. *Nefedova D. D.* Immunological aspects of pregnancy (literature review) / D. D. Nefedova, V. A. Linde, M. A. Levkovich // Meditsinskiy vestnik Yuga Rossii (Medical Bulletin of the South of Russia). — 2013. — No. 4. — P. 16—21.

3. *Pavlyuchenko I. I.* State of the antioxidant defense system and blood cytokine profile at different times of physiological pregnancy / I. I. Pavlyuchenko, O. S. Bezrukova, V. Ya. Zobenko, V. Ya. Esaulenko, A. A. Basov, A. P. Storozhuk // Krymskiy zhurnal eksperimentalnoy i klinicheskoy meditsiny (Crimean Journal of Experimental and Clinical Medicine). — 2020. — V. 10. — No. 2. — P. 40—47.

4. *Sukhikh G. T.* Immune factors in the etiology and pathogenesis of pregnancy complications / G. T. Sukhikh, L. V. Vanko // Akusherstvo i ginekologiya (Obstetrics and gynecology). — 2012. — No. 1. — P. 128—136.

5. *Khonina N. A.* Violation of the mechanisms of active immunosuppression during pregnancy complicated by gestosis / N. A. Khonina, A. V. Dudareva, M. A. Tikhonova, O. Yu. Leplina, A. A. Ostanin, N. M. Pasman, E. R. Chernykh // Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal (Siberian Scientific Medical Journal). — 2003. — No. 3. — P. 74—78.

6. *Shestopalov A. V.* Level of pro-inflammatory (IL-1, TNFα) and anti-inflammatory (IL-1RA, TFRβ) cytokines in women with physiological pregnancy, delivered by caesarean section / A. V. Shestopalov, Yu. A. Miroshnichenko, A. N. Rymashevskiy, N. M. Dobaeva // Fundamentalnye issledovaniya (Fundamental research). — 2014. — No. 4—2. — P. 402—406.

7. *Abbas A. K.* Balancing autoaggressive and protective T cell responses/ A. K. Abbas, J. Lohr, B. Knoechel // J Autoimmun. — 2007. — Is.28. — P. 59—61.

8. *Allan S. E.* CD4+ T-regulatory cells: toward therapy for human diseases / S. E. Allan, R. Broady, S. Gregori // Immunol Rev. — 2008. — Is. 223. — P. 391—421.

9. *Dobaño C.* Blood cytokine, chemokine and growth factor profiling in a cohort of pregnant women from tropical countries / C. Dobaño, A. Bardají, S. Kochar et al. // Cytokine. — 2020. — Vol. 125. — 154 818. — 11 p.

10. *Mohapatra S. K.* Implantation associated changes in expression profile of indoleamine-2, 3-dioxygenase 1, Th1-Th2 cytokines and interferon-stimulated genes on neutrophils and peripheral blood mononuclear cells of crossbred cows / S. K. Mohapatra, B.S.K. Panda, A. K. Verma, R. Kapila, A. K. Dang // Journal of Reproductive Immunology. — 2020. — Vol. 142. — 103 188. — 8 p.

11. *Amirova, Zh. S.* System of cytokines in pregnant women with persistent and recurrent threat of abortion / Zh. S. Amirova // Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy (Bulletin of new medical technologies). — 2006. — No. 4. — P. 66—67.

12. *Gadzhieva F. R.* Cytokine system as early markers of miscarriage / F. R. Gadzhieva // Biomeditsina (Biomedicine) (Baku). — 2010. — No. 3. — P. 16—19.

13. *Kashtalyan O. A.* Cytokines as a universal system of regulation / O. A. Kashtalyan, L. Yu. Ushakova // Meditsinskie novosti (Medical News). — 2017. — No. 9. — P. 3—7.

14. *Quinn K. H.* Decidual regulatory T cells in placental pathology and pregnancy complications / K. H. Quinn, M. M. Parast // Am. J. Reprod. Immunol. — 2013. — Vol. 69. — Is. 6. — P. 533—538.

15. *Botasheva T. L.* Angiogenic factors and cytokines in women with physiological and complicated pregnancy depending on the fetal gender / T. L. Botasheva, V. A. Linde, N. V. Ermolova, A. V. Khloponina, O. D. Sargsyan, V. V. Barinova // Tavricheskiy mediko-biologicheskiy vestnik (Tavricheskiy medico-biological bulletin). — 2016. — V. 19. — No. 2. — P. 22—27.

16. *Drukker N. A.* Role of regulatory polypeptide imbalance in the development of the abortion threat in women with placental insufficiency / N. A. Drukker, T. N. Pogorelova, I. I. Krukier, A. S. Degtyareva // Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya (Modern problems of science and education). — 2012. — No. 6. — P. 205—205.

17. *Dubossarskaya Z. M.* Cellular-molecular dialogues in the endometrium and placenta during physiological and pathological pregnancy (literature review) / Z. M. Dubossarskaya // Zhenskiy doctor (Gynecologist). — 2012. — No. 3. — P. 34—38.

18. *Chaouat G.* Th1/Th2 paradigm in pregnancy: paradigm lost? Cytokines pregnancy/early abortion: reexaming the Th1/Th2 paradigm / G. Chaouat, N. Ledee-Bataille, S. Dubanchet // Int. Arch. Allergy Immunol. — 2004. — Vol.13. — P. 93—119.

19. *Chatterjee P.* Regulation of the anti-inflammatory cytokines interleukin-4 and interleukin-10 during pregnancy / P. Chatterjee, V. L. Chiasson, K. R. Bounds,

B. M. Mitchell // Frontiers in immunology. — 2014. — Vol. 5. — P. 253.

20. *Artemyeva K. A.* Morphofunctional changes in the organs of the immune system and placenta in case of spontaneous and muramyldipeptide-induced abortions in mice / Thesis … Cand. of Med. Sciences, speciality 03.03.04. Artemyeva Kseniya Aleksandrovna — Moscow. — 2017. — 152 p.

21. *Glukhova T. N.* Modern ideas about the pathogenesis of preeclampsia as a set of typical pathological processes and pathological conditions that complicate the pregnancy course / T. N. Glukhova, N. P. Chesnokova, I. E. Rogozhina, O. N. Sergeeva / / Scientific review. Medical Sciences. (Nauchnoe obozrenie. Meditsinskie nauki). — 2016. — No. 2. — P. 12—32.

22. *Kruglyakova M. V.* Characteristics of the cytokine profile in physiological and complicated pregnancy / M. V. Kruglyakova, O. V. Smirnova, N. M. Titova // Culture. Science. Education: problems and prospects. — IX International Scientific and Practical Conference. NVGU. — 2021. — P. 549—555.

23. *Sokolov D. I.* Role of cytokines in the control of placental development in case of a norm and gestosis / D. I. Sokolov, M. V. Lesnichaya, A. V. Selyutin // Immunologiya (Immunology). — 2009. — No1. — P. 22—27.

24. *Khonina N. A.* Features of cytokine production in case of a physiological and complicated pregnancy / N. A. Khonina, N. M. Pasman, A. A. Ostanin, E. R. Chernykh // Akusherstvo i ginekologiya (Obstetrics and gynecology). — 2006. — No. 2. — P. 11—15.

25. *Shirshev S. V.* Mechanisms of immunoendocrine control of reproductive processes / S. V. Shirshev // Ekaterinburg. — 2002. — V. 2. — 557 p.

26. *Chen S. J.* Immunologic regulation in pregnancy: from mechanism to therapeutic strategy for immunomodulation / S. J. Chen, Y. L. Liu, H. K. Sytwu // Clin Dev Immunol. 2012. — Vol. 2012. — P. 258 391.

27. *Murphy S. P.* Interferon gamma in successful pregnancies / S. P. Murphy, C. Tayade, A. A. Ashkar, K. Hatta, J. Zhang, B. A. Croy // Biology of reproduction. — 2009. — V. 80. — No. 5. — P. 848—859.

28. *Saito S.* Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy / S. Saito, A. Nakashima, T. Shima, M. Ito // American journal of reproductive immunology. — 2010. — V. 63. — No. 6. — P. 601—610.

29. *Veropotvelyan P. N.* Cytokines in the mother-placenta-fetus system in a physiological and pathological course of pregnancy / P. N. Veropotvelyan, N. P. Veropotvelyan, I. V. Guzhevskaya // Zdorovye zhenshchiny (Women's Health). — 2013. — No. 1. — P. 126—129.

30. *Kolesnikova N. V.* Cytokine status of pregnant women with chronic fetoplacental insufficiency (literature review) / N. V. Kolesnikova // Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal (Russian Journal of Immunology). — 2010. — No. 4(13). — P. 343—351.

31. *Prokhodnaya V. A.* Cytokine profile of oral and gingival fluid in pregnant women / V. A. Prokhodnaya, S. O. Surmeneva, E. Kh. Chibichyan, A. Yu. Kosykh // Rossiyskiy stomatologicheskiy zhurnal (Russian Dental Journal). — 2017. — No. 21(4). — P. 194—197.

32. *Narovlyanskiy A. N.* Interferons: promising areas of research / A. N. Narovlyanskiy, F. I. Ershov, A. L. Gintsburg // Immunologiya (Immunology). — 2013. — V. 34. — No. 3. — P. 168—172.

33. *Liu H.* Increased expression of IFN-γ in preeclampsia impairs human trophoblast invasion via a SOCS1/JAK/STAT1 feedback loop / H. Liu, W. Wang, C. Liu // Experimental and Therapeutic Medicine. — 2021. — Vol. 21. — Is.112. — 12 p.

34. *Pogorelova T. N.* Molecular regulation mechanisms of metabolic processes in the placenta during physiological gestation course and complicated pregnancy / T. N. Pogorelova, V. A. Linde, I. I. Krukier, V. O. Gunko, N. A. Drukker // — St. Petersburg: Hippocrates. — 2011. — 304 p.

35. *Opal S. M.* Anti-Inflammatory cytokines / S. M. Opal, V. A. DePalo // Impact of Basic Research on Tomorrow's Medicine. — 2000. — Vol. 117. — Is.4. — P. 1162—1171.

36. *Baev O. R.* Early stages of formation of mother-placenta-fetus system / O. R. Baev, N. V. Aleksandrova // Zhurnal Akusherstvo i ginekologiya (Journal of Obstetrics and Gynecology). — 2011. — No. 8. — P. 4—8.

37. *Bezrukova O. S.* Total antioxidant activity, the level of the enzyme of the first line of antioxidant protection superoxide dismutase and the anti-inflammatory cytokine IL-10 in blood plasma in pregnant women at various stages of pregnancy / O. S. Bezrukova, I. I. Pavlyuchenko, E. A. Kokov, V. Ya. Zobenko, E. E. Esaulenko // Krymskiy zhurnal eksperimentalnoy i klinicheskoy meditsiny (Crimean Journal of Experimental and Clinical Medicine). — 2019. — V.9. — Number 3. — P. 6—12.

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

39. *Thaxton J. E.* Interleukin-10: a multi-faceted agent of pregnancy / J. E. Thaxton, S. Sharma // Am J Reprod Immunol. — 2010. — Vol. 63. — P. 482—491.

40. *Zhang Q. H.* Predominant Th2-type response during normal pregnancy of rats / Q. H. Zhang, Y. H. Huang, Y. Z. Hu, G. Z. Wei, S. Y. Lu, Y. F. Zhao // Sheng Li Xue Bao. — 2004. — Vol. 56. — P. 258—62.

41. *Levkovich M. A.* Immunological aspects of the miscarriage problem / M. A. Levkovich, D. D. Nefedova, L. D. Tsaturyan, E. M. Berdichevskaya // Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya (Modern problems of science and education). — 2016. — No. 3. — P. 186—186.

42. *Petrov, Yu. A.* Immunological aspects of miscarriage / Yu. A. Petrov, I. G. Arndt, A. S. Bakhtina // Glavvrach Yuga Rossii (Chief Physician of the South of Russia). — 2021. — No. 1 (76). — P. 38—41.

43. *Dekel N.* Inflammation and implantation / N. Dekel, Y. Gnainsky, I. Granot, G. Mor // Am.J. Reprod. Immunol. — 2010. — Vol. 63. — P. 17—21.

44. *Levkovich M. A.* Modern ideas about the role of cytokines in the genesis of the physiological and pathological course of pregnancy / M. A. Levkovich // Rossiyskiy vestnik akusherstva i ginekologii (Russian Bulletin of obstetrics and gynecology). — 2008. — No. 3. — Volume 8. — P. 37—40.

45. *Radzinskiy V. E.* Early pregnancy stages / V. E. Radzinsky, A. A. Orazmuradov // M.: StatusPraesens. — 2009. — 480 p.

46. *Sevostyanova O. Yu.* Immune homeostasis in the dynamics of uncomplicated pregnancy / O. Yu. Sevostyanova, S. N. Teplova, V. E. Radzinskiy // Vestnik RUDN. — 2005. — No. 4 (32). — P. 39—43

47. *Shirshev S. V.* Antenatal autoecology / S. V. Shirshev // Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal (Russian Journal of Immunology). — 2010. — V. 4. — No. 4. — P. 306—320.

48. *Xia H.* Effects of IL-1 beta on RT1-A/RT1-DM at thematernal-fetal interface during pregnancy in rats / H. Xia, J. Peng, Q. Sun, Y. Yang, M. Liu // Front Biosci. — 2006. — Vol. 11. — P. 2868—2875.

49. *Dinarello C.* The IL-1 family and inflammatory diseases / C. Dinarello // Clin Exp Rheumatol. — 2002. — Vol. 20. — Is. 1. — P. 170—177.

50. *Raghupathy R.* Cytokine production by maternal lymphocytes during normal human pregnancy and in unexplained recurrent spontaneous abortion / R. Raghupathy, M. Makhseed, F. Azizieh, A. Omu, M. Gupta, R. Farhat // Hum Reprod. — 2000. — Vol. 15. — Is. 3. — P. 713—718.

51. *Chan C. C.* A correlation of pregnancy term, dis ease activity, serum female hormones, and cytokines in uveitis / C. C. Chan, G. F. Reed, Y. Kim, E. Agrón, R. R. Buggage // Brit J Ophthal. — 2004. — Vol. 88. — P. 1506—1509.

52. *Ashton S. V.* Uterine spiral artery remodeling involves endothelial apoptosis induced by extravillous trophoblasts through Fas/FasL interactions / S. V. Ashton, G. S. Whitley, P. R. Dash, M. Wareing, I. P. Crocker, P. N. Baker, J. E. Cartwright // Arterioscler Thomb Vase Biol. — 2005. — Vol. 25. — Is. 1. — P. 102—108.

53. *Sukhikh G. T.* Immune mechanisms in the physiology and pathology of pregnancy / G. T. Sukhikh, L. V. Vanko // Immunologiya (Immunology). — 2005. — No. .9 (2). — P. 103—108.

54. *Staszewski-Chavez, S.* Role of apoptosis in the regulation of trophoblast survival and differentiation during pregnancy / S. Staszewski-Chavez, V. Abrahams, G. Mor // Endocr. Rev. — 2005. — Vol. 10. — Is. 1. — P. 210—221.

55. *Seeber B.* Proteomic analysis of serum yields six candidate proteins that regulated in a subset of women with endometriosis / B. Seeber, M. D. Sammel, X. Fan, G. L. Gerton, A. Shaunik, J. Chittams, K. T. Barnhart // Fertil. Steril. — 2010. — Vol.93. — P. 2137—2144.

56. *Ketlinskiy S. A.* Cytokines / S. A. Ketlinskiy, A. S. Simbirtsev // — St. Petersburg: Publishing House «Foliant». — 2008. — 552 p.

57. *Chistyakova G. N.* Immunological aspects of the relationship between mother and fetus in case of a physiological and pathological pregnancy course / G. N. Chistyakova // Vestnik Uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki (Bulletin of Ural Medical Academic Science). — 2009. — No. 4. — P. 59—62.

58. *Le Bon, A.* Type I interferons potently enhance humoral immunity and can promote isotype switching dendritic cells in vivo / Le *Bon A.*, *Schiavoni G.*, G. D'Agostino, I. Gresser, F. Belardelli, D. F. Tough // Immunity. — 2001. — Vol. 14. — P. 461—470.

59. *Lellem A.* Inhibition by IL-12 IFN-alpha of I-309 and macrophage-derived chemokine production upon ECK triggering of human Thl cells / A. Lellem, L. Colantonio, S. Bhakta, S. Sozzani, A. *Mantovan F.* Sinigaglia, D. D'Ambrosioi // Eur. J. Immunol. — 2000. — Vol. 30. — P. 1030—1039.

60. *Balasa R.* Assessment of Interleukin-17A, Interleukin-10 and transforming growth factor-beta1 serum titers in relapsing remitting multiple sclerosis patients treated with avonex, possible biomarkers for treatment response / R. Balasa, S. Maier, S. Voidazan, A. Hutanu, Z. Bajko, A. Motataianu, B. Tilea, C. Tiu // CNS Neurol Disord Drug Targets. — 2017. — Is.16 (1). — P. 93—101.

61. *Tao Y.* Immunologic and MRI markers of the therapeutic effect of IFN-β-1a in relapsing-remitting MS / Y. Tao, X. Zhang, R. Zivadinov, M. G. Dwyer, C. Kennedy et al. // Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm. — 2015. — Is. 2 (6). — e176.

62. *Yen J. H.* IFN-beta inhibits dendritic cell migration through STAT-1-mediated transcriptional suppression of CCR7 and matrix metalloproteinase 9 / J. H. Yen, W. Kong, D. Ganea // J Immunol. — 2010. — Is. 184 (7). — P. 3478—3486.

63. *Lash G. E.* Interferon-gamma inhibits extravillous trophoblast cell invasion by a mechanism that involves both changes in apoptosis and protease levels / G. E. Lash, H. A. Otun, B. A. Innes, M. Kirkley, L. De Oliveira, R. F. Searle, S. C. Robson, J. N. Bulmer // The FASEB journal. — 2006. — Vol. 20. — Is.14. — P. 2512—2518.

64. *Zhang J. H.* Analysis of cytokine regulators inducing interferon production by mouse uterine natural killer cells / J. H. Zhang, H. He, A. Borzychowski, K. Takeda, S. Akira, B. A. Croy // Biol Reprod. — 2003. — Vol. 69. — P. 404—411.

65. *Stepanovich M. Yu.* Cytokines as neuromodulators in the central nervous system / M. Yu. Stepanovich // Biokhimiya (Biochemistry). — 2005. — No. 22. — P. 5—11.

66. *Casart Y.* Serum levels of interleukin-6, interleukin-1beta and human chorionic gonadotropin in pre-eclamptic and normal pregnancy / Y. Casart, K. Tarrazzi, M. Camejo // Gynec Endocr. — 2007. — Vol. 23. — Is. 5. — P. 300—320.

67. *Crocker I.* Differences in apoptotic susceptibility of cytotrophoblasts and syncytiotro — phoblasts in normal pregnancy to those complicated with preeclampsia and intrauterine growth restriction / I. Crocker, S. Cooper, S. Ong, P. N. Baker // Am J Pathol. — 2003. — Vol. 162. — Is. 2. — P. 637—643.

68. *Mor G.* Role of the Fas/Fas ligand system in female reproductive organs: survival and apoptosis / G. Mor, S. Staszewski, M. Kamsteeg // Biochem Pharmacol. — 2002. — Vol. 64. — Is. 9. — P. 1305—1315.

69. *Uciechowski P.* Interleukin-6: a masterplayer in the cytokine network / P. Uciechowski, W. C. M. Dempke // Oncology. — 2020. — Vol. 98. — Is.3. — P. 131—137.

70. *Margni R.* During pregnancy, in the context of a Th2-type cytokine profile, serum IL-6 levels might condition the quality of the syn thesized antibodies / R. Margni, A. Zenclussen // Am J Reprod Immumjil. — 2001. — Vol. 46. — Is. 3. — P. 181—187.

71. *Sotnikova N. Yu.* Production of cytokines by decidual macrophages in case of a physiological pregnancy and intrauterine growth restriction syndrome / N. Yu. Sotnikova // Tsitokiny i vospalenie (Cytokines and inflammation). — 2006. — No. 5 (1). — P. 16—20.

72. *Collins M. K.* Dendritic cell entrapment within the pregnant uterus inhibits immune surveillance of the maternal/fetal interface in mice / M. K. Collins, C. S. Tay, A. Erlebacher // J. Clin. Invest. — 2009. — Vol. 119. — P. 2062—2073.

73. *Caballero-Campo, P.* Hormonal and embryonic regulation of chemokines IL-8, MCP-1 and RANTES in the human endometrium during the window of implantation / P. Caballero-Campo, E. Dominguez, J. Coloma, M. Meseguer, J. Remohí, A. Pellicer, C. Simón // Mol Hum Reprod. — 2002. — Vol. 8. — P. 375—384.

74. *Dijkstra K.* Matrix metallopro teinase-1 and –9 in cervicovaginal fluid from women during pregnancy and in labor / K. Dijkstra, E. Kuszynski, C. J. Lockwood, G. H. A. Visser // Prenat Neonat Med. — 2001. — No. 6. — P. 122—128.

75. *Pitskhelauri E. G.* Possibilities of predicting the development of preeclampsia from early pregnancy in patients after assisted reproductive technologies / E. G. Pitskhelauri, A. N. Strizhakov, N. A. Bogacheva, T. E. Kuzmina // Akusherstvo, Ginekologiya i Reproduktsiya (Obstetrics, Gynecology and Reproduction). — 2019. — No. 13(4). — P. 305—312.

76. *Robertson S. A.* Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM—CSF) targets myeloid leukocytes in the uterus during the post-mating inflammatory response in mice / S. A. Robertson, A. C. O'Connell, S. N. Hudson, R. F. Seamark // J Reprod Immunol. — 2000. — Vol. 46(2). — P. 131—54.

77. *Paiva P.* Human chorionic gonadotrophin regulates FGF2 and other cytokines produced by human endometrial epithelial cells, providing a mechanism for enhancing endometrial receptivity / P. Paiva, N. J. Hannan, C. Hincks, K. L. Meehan, E. Pruysers, E. Dimitriadis, L. A. Salamonsen // Hum. Reprod. — 2011. — Vol. 26 (5). — P. 1153—1162.

78. *Robertson S. A.* Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor promotes glucose transport and blastomere viability in murine preimplantation embryos / S. A. Robertson, C. Sjöblom, M. J. Jasper, R. J. Norman, R. F. Seamark // Biol Reprod. — 2001. — Vol. 64(4). — P. 1206—15.

79. *Lee J. Y.* Role of endometrial immune cells in implantation / J. Y. Lee, M. Lee, S. K. Lee // Clin Exp Reprod Med. — 2011. — Vol. 38(3). — P. 119—125.

80. *Moldenhauer L. M.* GM—CSF is an essential regulator of T cell activation competence in uterine dendritic cells during early pregnancy in mice / L. M. Moldenhauer, S. N. Keenihan, J. D. Hayball, S. A. Robertson // Journal of Immunology. — 2010. — Vol. 185(11). — P. 7085—7096.

81. *Piccinni M. P.* T cells in normal pregnancy and recurrent pregnancy loss / M. P. Piccinni // Reprod Biomed Online. — 2007. — Vol. 14(1). — P. 95—9.

82. *Persson M.* Immunological status in patients undergoing in vitro fertilisation: responses to hormone treatment and relationship to outcome / M. Persson, C. Ekerfelt, B. Jablonowska, Y. Jonsson, J. Ernerudh, M. C. Jenmalm, G. Berg // J Reprod Immunol. — 2012. — Vol. 96(1—2). — P. 58—67.

83. *Gui J.* Effects of acupuncture on Th1, Th2 cytokines in rats of implantation failure. / J. Gui, F. Xiong, J. Li, G. Huang // Evid Based Complement Alternat Med. — 2012. — Vol. 2012. — P. 893 023.

84. *Kumar A.* IL-10, TNF-α & IFN-γ: potential early biomarkers for preeclampsia / A. Kumar, N. Begum, S. Prasad, S. Agarwal, S. Sharma // Cellular immunology. — 2013. — Vol. 283. — Is.1—2. — P. 70—74.

85. *Mosimann B.* Maternal serum cytokines at 30—33 weeks in the prediction of preeclampsia / B. Mosimann, M. Wagner, L. C. Y. Poon, A. S. Bansal, K. H. Nicolaides // Prenatal diagnosis. — 2013. — Vol. 33. — Is. 9. — P. 823—830.

86. *White C. A.* Effect of interleukin-10 null mutation on maternal immune response and reproductive outcome in mice / C. A. White, M. Johansson, C. T. Roberts, J. R. Alistair, S. A. Robertson // Biology of Reproduction. — 2004. — Vol. 70(1). — P. 123—131.

87. *Brogin M. J.* Interleukin 10 and tumor necrosis factor-alpha in pregnancy: aspects of interest in clinical obstetrics / J. B. Moreli, A. M. Cirino Ruocco, J. M. Vernini, M. V. Rudge, I. M. Calderon // ISRN Obstet Gynecol. — 2012. — Vol. 2012. — e 230 742.

88. *Brown M. B.* M1/M2 macrophage polarity in normal and complicated pregnancy / M. B. Brown, M. von Chamier, A. B. Allam, L. Reyes // Front Immunol. — 2014. — Vol. 5 — P. 606—616

89. *Matsumura T.* TGF-α down-regulates IL-l, induced TLR2 expression in murine hepatocytes / T. Matsumura, H. Hayashi, T. Takii, C. F. Thorn, A. S. Whitehead, J. Inoue,

K. Onozaki // J Leukocyte Biol. — 2004. — Vol. 75. — P. 1056—1061.

90. *Kushch O. G.* Research on PLA-lymphocytes — helpers in the decidual tissue of the uterus / O. G. Kushch // Ukrainskiy mofologicheskiy almanakh (Ukrainian morphological almanac). — 2010. — No. 2. — P. 118—120.

91. *Kazimirko N. K.* Role of the immune system in case of a physiological pregnancy course / N. K. Kazimirko, D. P. Tatarenko, O. A. Kotova // Obshchaya patologiya i patologicheskaya fiziologiya (General pathology and pathological physiology). — 2013. — V. 8. — No. 2. — P. 13—27.

92. *Posiseeva L. V.* Immunology of pregnancy / L. V. Posiseeva, N. Yu. Sotnikova // Akusherstvo i ginekologiya (Obstetrics and gynecology). — 2007. — No. 5. — P. 42—45.

93. *Ogawa K.* Activin a functions as a Th2 cytokine in the promotion of the alternative activation of macrophages / *K. Ogawa* // Immunol. — 2006. — Vol.177. — N.10. — P. 6787—6794.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

L. Yu. Sashnina — Doctor of Veterinary Sciences, Head of the Laboratory;
A. G. Shakhov — Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate;
Yu. Yu. Vladimirova — Junior Scientific Associate;
G. V. Nikonenko — Junior Scientific Associate.

The article was submitted 27.06.2022.

Научная статья
УДК 636.22/28.082
DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.3.162

БЕЛКОВО-ЛИПИДНЫЙ ОБМЕН У БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ КРАСНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ

Ахмедага Имаш оглы Абилов[*, **]✉, Михаил Иванович Дунин[*], Татьяна Анатольевна Мороз[*], Сергей Александрович Шеметюк[**], Ирина Евгеньевна Приданова[*]

[*]*Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела, Королев, Московская область, Россия, ahmed.abilov@mail.ru✉*
[**]*Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста, Дубровицы, Московская область, Россия*

Аннотация. Впервые проведены исследования на основе мониторинга белково-липидного обмена у быков-производителей отечественной красно-пестрой породы в возрасте 2—11 лет, в количестве 8 голов в день взятия семени в условиях Черноземья Воронежской области. Исследования выполнены ФГБНУ ВНИИплем, ФГБНУ ФНЦФИЖ им. Л. К. Эрнста и холдингом АОГЦВ на базе АО племпредприятие «Воронежское», с использованием современного оборудования и реактивов (биохимический анализатор ChemWell-2902 (Awareness Technology Inc., США).
По итогам анализа результатов исследования установили, что возраст быков племпредприятий оказывает существенное влияние на интенсивность обмена белков и липидов в их организме. В возрастной группе, включающей производителей от 6 до 11 лет, концентрации общего белка ($p < 0,05$), глобулина ($p < 0,001$), а также щелочной фосфатазы ($p < 0,01$) увеличились на достоверную величину. У быков-производителей более старшего возраста отмечены также превышения физиологической нормы по максимальному содержанию креатинина и мочевины.
Ключевые слова: биоэлементы, быки производители, возраст, порода, белково-липидный обмен, мочевина, креатинин

Эффективность использования ценных в племенном отношении быков-производителей в значительной степени зависит от состояния их здоровья и воспроизводительных качеств.

Биохимические исследования обменных процессов позволяют определить уже на ранних стадиях нарушения, вызванные воздействием различных экзогенных и эндогенных факторов.

Метаболические процессы могут нарушаться как при недостатке, так и при избытке многих элементов в организме животных.

Белки, углеводы, жиры постоянно взаимодействуют с минеральными веществами, образуя своеобразные комплексы. Если в организме отмечается недостаток или избыток белка, то при этом состоянии, в первую очередь, нарушается фосфорно-кальциевый обмен [1]. Низкий уровень белков в рационе или недостаток незаменимых аминокислот вызывают ослабление деятельности всех желез внутренней секреции, и в особенности гипофиза и надпочечников [2].

Уровень мочевины в комплексе с концентрацией альбуминов и глюкозы в плазме крови может с большой точностью показать сбалансированность рациона по энерго-протеиновому соотношению и выявить дефицит или избыток сырого протеина в сухом веществе рациона.

Липиды в организме животных играют огромную роль как источник энергии, являются хорошими растворителями жирорастворимых витаминов и др. [3]. При повышении содержания общих липидов в крови снижается уровень фосфолипидов, в результате нарушается окисление жиров печени, что приводит к накоплению кетоновых тел [4].

© Абилов А. И. оглы, Дунин М. И., Мороз Т. А., Шеметюк С. А., Приданова И. Е., 2022

При компенсировании организмом энергетического дефицита путем сжигания жиров происходит повышение концентрации холестерина в крови и образование кетоновых тел, что вызывает перерождение печени [5].

Повышение концентрации общего и прямого билирубина, высокая активность АСТ и АЛТ являются диагностическими тестами заболевания печени алиментарной этиологии [1].

Креатинин, как и мочевина, являются продуктами обмена белков в организме. При повышении концентрации мочевины в крови усиленно освобождается аммиак, оказывая токсическое воздействие на организм, подавляя действие половых желез [6, 7].

Концентрация мочевины может повыситься в сыворотке крови при нарушении функции почек. Содержание мочевины уменьшается при белковом голодании, а также при избыточном потреблении белка и нарушении его всасывания. Высокое содержание прямого билирубина может быть причиной заболевания печени, гепатита и других болезней желудочно-кишечного тракта.

По содержанию холестерина в сыворотке крови можно судить о функциональной способности печени, т. к. он входит в состав клеточных мембран, и с его помощью в организме синтезируется более 40 стероидных гормонов, в том числе гормоны надпочечников, регулирующие углеводный и водно-солевой обмены, а также половые гормоны (эстрадиол и тестостерон).

С помощью холестерина в коже под действием ультрафиолетовых лучей синтезируется витамин D, который необходим для усвоения кальция в организме.

Мониторинг биохимического и эндокринного статуса у высокопродуктивных животных является основополагающим, так как с его помощью даже на самых ранних стадиях можно выявлять нарушения всех видов обмена веществ — белков, углеводов, липидов, витаминов, макро-микроэлементов, гормонов [8].

Все отклонения в кормлении, содержании и эксплуатации животных приводят к нарушениям обмена веществ, снижению резистентности, вторичному иммунодефициту, высокой заболеваемости (80—90 %) и, как следствие — снижению фертильности (70—90 %).

При увеличении племенной ценности и уровня продуктивности изменяется интенсивность обмена веществ и гормональный статус быков новой генетической генерации. В связи с этим назрела необходимость уточнить основные показатели биологических процессов, происходящих в организме быков-производителей отечественной красно-пестрой породы, и полученные новые данные использовать в совершенствовании селекции высокопродуктивного крупного рогатого скота.

Цель исследований — изучить особенности обменных процессов (белково-липидного, минерального) и содержание эндогенных гормонов (тестостерона, эстрадиола, тироксина, кортизола), а также холестерина в сыворотке крови у быков производителей красно-пестрой породы в зависимости от возраста, в день взятия семени, в условиях черноземной зоны РФ (Воронежской области).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена сотрудниками ФГБНУ ВНИИплем, ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л. К. Эрнста и холдинга АО ГЦВ на базе АО племпредприятие «Воронежское» в 2018—2019 гг. В опытах использовали 8 быков-производителей красно-пестрой породы в возрасте 2—11 лет.

Кормление животных осуществляли сбалансированным рационом по нормам ВИЖа. Содержание и эксплуатацию производителей осуществляли в соответствии с «Национальной технологией содержания и использования спермы племенных быков производителей (под общей редакцией проф. Абилова А. И. и Решетниковой Н. М. М, 2008 г.).

Кровь для анализов брали из яремной вены в стерильные пробирки, в течение 30 мин после завершения взятия семени.

Биохимический состав крови исследовали на биохимическом анализаторе Chem-Well — 2902 (Awareness Technology Inc., США) и атомно-абсорбционном спектрометре «Квант-2а» (Россия). Было определено содержание общего белка, альбумина, глобулина и их соотношение, а также такие показатели, как холестерин, билирубин, креатинин, мочевина, щелочная фосфатаза. Содержание холестерина оценивали на автоматическом анализаторе Chem-Well — 2902 (Awareness Technology Inc., США).

Статистическую обработку полученного материала проводили в программе Microsoft Exel.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Нами проведен комплексный мониторинг состояния белково-липидного обмена у быков-производителей красно-пестрой породы воронежской типа в возрасте 2—11 лет (табл. 1).

Таблица 1

Показатели белково-липидного обмена быков-производителей

Показатели	Средние показатели $M \pm m$	Вариабельность фактическая		Референтные значения	Отклонение от максимальных значений
		min	max		
Общий белок, г/л	90,3 ± 5,14	73,36	109,33	70—92	18,84 %
Альбумин, г/л	31,7 ± 1,28	23,44	37,69	25—36	—
Глобулин, г/л	58,6 ± 5,07	40,29	75,91	40—63	20,49 %
А:Г	0,58 ± 0,06	0,4	0,82	0,4—0,8	2,50 %
Холестерин общий, мМ/л	2,3 ± 0,25	2,23	2,79	2,1—8,2	—
Билирубин общий, мМ/л	5,3 ± 0,57	2,81	7,49	1,16—8,15	—
Креатинин, мкМ/л	139,5 ± 10,14	100,05	197,74	62—163	21,31 %
Мочевина, мМ/л	6,35 ± 0,60	3,97	8,41	2,4—7,5	12,13 %

Установлено, что уровень общего белка в сыворотке крови быков красно-пестрой породы был увеличен, его среднее значение составило 90,3 г/л, что, практически, близко к верхней границе физиологической нормы (максимальное значение нормы — 92 г/л). Несмотря на то, что данный показатель находился в пределах референтных значений, у значительной части животных в крови общий белок достигал величины 109,33 г/л (на 19 % выше референтных показателей). Такой рост содержания общего белка в крови животных, по всей вероятности, обусловлен высококонцентратным типом кормления, что характерно для всех племпредприятий с целью получения большого количества спермопродукции. Концентрация глобулинов характеризовалась аналогичными показателями. Среднее значение по всей группе быков находилось в пределах референтных значений — 58,6 г/л (при норме 3—63 г/л). Однако среди быков-производителей были животные с показателями выше нормативных на 20 %. Таким образом, повышение содержания общего белка в организме производителей происходило за счет глобулиновых фракций.

Нами также изучены концентрации продуктов обмена белков в организме — креатинина и мочевины. В результате получены данные, которые свидетельствуют о том, что среди быков были особи с повышенными уровнями креатинина — на 21,3 %, мочевины — на 12,1 % по сравнению с нормативными параметрами, хотя средние показатели по этим компонентам не выходили за рамки референтный значений.

Результаты изучения белково-липидного обмена у быков красно-пестрой породы в зависимости от возраста представлены в таблице 2. В первую группу вошли четыре быка в возрасте 2 лет, самые молодые, в начале активной эксплуатации. Во вторую группу — такое же количество животных, возраст которых составлял 6—11 лет.

Из анализа материалов таблицы 2 следует, что возраст играет существенную роль в обменных процессах у быков, и вследствие этого имеется ряд различий между группами. Уровень общего белка в возрастной группе животных (6—11 лет) составил 98,9 г/л при нормативном диапазоне 70—92 г/л. Это на 23,0 г/л выше показателей молодых быков, у которых средняя величина содержания общего белка составила 75,9 г/л (разница 30,3 % при достоверности $P < 0,05$).

Аналогичные данные зафиксированы и по содержанию глобулиновой фракции белка, при достоверности разницы $P < 0,001$. У взрослых быков-производителей концентрация глобулинов в сыворотке крови была на уровне 68,09 г/л, что на 25 г/л больше аналогичного показателя молодых животных (42,8 г/л). Отношение содержания альбумина к глобулину оказалось в пользу молодых животных — 0,78 при норме 0,40—0,80 единиц. У взрослых быков-производителей этот показатель находился на уровне 0,46 единиц.

Таблица 2

Состояние белково-липидного обмена у быков-производителей красно-пестрой породы в зависимости от возраста

Показатели	Быки-производители		Разница	Достоверность
Возраст быков, лет	2 года	6—11 лет	4—9 лет	
Общий белок, г/л	75,38 ± 1,46	98,90 ± 4,86	23,02 / 0,34 %	$P < 0,05$
Альбумин, г/л	33,07 ± 1,25	70,87 ± 1,92	–2,2 / 7,13 %	НД
Глобулин, г/л	42,81 ± 1,36	68,09 ± 3,42	25,22 / 3,92 %	$P < 0,001$
А:Г	0,78 ± 0,13	0,46 ± 0,02	–0,32 / 70,4 %	$P < 0,1$
Холестерин общий, мМ/л	2,50 ± 0,12	2,54 ± 0,11	0,04 / 1,70 %	НД
Билирубин общий, мМ/л	4,99 ± 1,36	5,44 ± 0,57	0,44 / 8,91 %	НД
Креатинин, мкМ/л	117,7 ± 8,86	152,62 ± 2,26	34,92 / 23,67 %	$P < 0,1$
Мочевина, мМ/л	4,58 ± 1,86	6,21 ± 0,97	1,63 /35,7 %	НД

При изучении зависимости содержания общего билирубина от возраста животных получены следующие результаты — средняя величина этого показателя у быков старшего возраста равнялась 5,44 мкмоль/л, у молодых особей — 4,99 мкмоль/л (разница 8,9 %). У быков старшей возрастной группы отмечен повышенный уровень креатинина (152,62 мкмоль/л), против 117,7 мкмоль/л у быков двух лет. Разница между опытными группами по содержанию этого компонента в сыворотке крови составила 23,7 %, при $P < 0,1$.

Анализ вариабельности полученных в исследовании данных показал наличие отклонений между минимальными и максимальными фактическими показателями и референтными значениями исследуемых параметров (табл. 3).

Таблица 3

Вариабельность состояния белково-липидного обмена у быков-производителей красно-пестрой породы в зависимости от возраста

Показатели	Быки-производители		Референтные значения
Возраст быков, лет	2 года	6—11 лет	
Общий белок, г/л	73,36—75,38	81,64—109,33	70—92
Альбумин, г/л	30,9—35,24	23,44—33,69	25—76
Глобулин, г/л	40,24—44,98	58,20—75,91	40—63
А:Г, ед	0,69—0,82	0,4—0,51	0,4—0,8
Холестерин общий, мМ/л	2,26—2,62	2,23—2,79	2,1—8,2
Билирубин общий, мМ/л	2,81—7,49	4,17—7,49	1,36—8,15
Креатинин, мкМ/л	100,05—127,9	132,27—197,74	62—163
Мочевина, мМ/л	5,67—7,4	3,97—8,41	2,4—7,5

Из представленных данных таблицы 3 следует, что среди молодых быков как минимальные, так и максимальные параметры показателей обмена находились в границах референтных значений. У быков производителей более старшего возраста отмечены превышения физиологической нормы по максимальному содержанию общего белка, глобулина, креатинина и мочевины.

Это можно объяснить концентратным типом кормления быков-производителей, который является существенным фактором для формирования полноценных сперматозоидов, способных перенести «холодовой удар» при криоконсервации, а также необходимого для получения большего количества полноценного семени с точки зрения экономики.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, возраст быков-производителей красно-пестрой породы играет существенную роль в состоянии их белково-липидного обмена.Т ак, имеются достоверные отличия взрослых быков по отношению к молодым: по общему белку ($P < 0,05$); креатинину ($P < 0,01$), уровню щелочной фосфатазы ($P < 0,01$). Аналогичные данные были получены Н. В. Боголюбовой и др. (2019) при изучении метаболического профиля у быков голштинской породы [9].

Авторы отмечают, что более интенсивное использование производителей с возрастом приводит к значительным изменениям в обмене белков (увеличивается содержание общего белка, его глобулиновой фракции, а также креатинина, мочевины и некоторых ферментов), что связано, по мнению исследователей, с повышенной нагрузкой на печень и сердечно-сосудистую систему животных. Полученные в настоящем исследовании уточненные характеристики метаболического профиля быков красно-пестрой породы, отражающие их белково-липидный и минеральный обмены, а также возрастная динамика показателей эндогенных гормонов могут быть использованы для решения задач практической селекции в программах совершенствования этой породы и технологии эксплуатации быков производителей, содержащихся на отечественных племпредприятиях.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Решетникова Н. М., Лазаренко, Н.А., Мороз, Т.А., Малиновский, А. М.* Руководство по воспроизводству молочного стада КРС. М. О. Раменское. 2002. 96 с.

2. *Субботин А. Д.* Искусственное осеменение коров и телок. Дубровицы, ГНУ ВИЖ Россельхозакадемии. 2012., 126 с.

3. *Метревели Т. В.* Биохимия животных: учеб. пособие для студентов вузов, обучающихся по специальности 310 700 — Зоотехния / Т. В. Метревели; под ред. Н. С. Шевелева. — СПб. [и др.]: Лань, 2005. — 295, [1] с.: ил., табл.; 22 см.)

4. *Кузнецов С. Г., Заболотнов, Л.А., Баранова, И.А., Матюшенко, П. В.* Рекомендации по воспроизводству КРС. — Боровск. — ЗАО «Витасоль». — 2011. — 34 с.

5. *Племяшов К. В.* Воспроизводительные функции высокопродуктивных коров при нарушении обмена веществ и ее коррекции: автореф. дис. д-ра вет. наук (06.02.06)/К.В. Племяшов. — СПб., 2010. — 38 с.

6. *Фомичев Ю. П.* Кетоз, вопрос продуктивности, репродукции, долголетия и меры его профилактики у высокопродуктивных молочных коров. Практическое использование современных научных разработок в производстве и селекции крупного рогатого скота. Материалы пленарного заседания международной научной конференции. Дубровицы. ГНУ ВИЖ Россельхозакадемии. 2012. С. 47—79.

7. *Yuan G., Al-Shali, K.Z., Hegele, R. A.* Hypertriglyceridemia: its etiology, effects and treatment. Canadian Medical Association Journal 2017, 176(8): 1113—1120 (doi: 10.1503/cmaj.060963).

8. *Владимиров В. Л., Самохин, В.Т., Науменко, П.А., Рыжков, В.А., Баранов, Я.М., Фриберг, Р.В, Бодров, В.М.* К вопросу о биохимическом контроле в животноводстве. В кн. Прошлое, настоящее и будущее зоотехнической науки. Научные труды ВИЖа, вып. 62, т. 3, Дубровицы. — 2004. — С. 17—22.

9. *Боголюбова Н. В., Гусев, И.В., Рыков, Р.А., Комбарова, Н. А.* Особенности белкового обмена у быков-производителей разных возрастов// Молочное и мясное скотоводство. —2019. — № 3. — С. 38—41.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

А. И. Абилов — доктор биологических наук, профессор;
М. И. Дунин — старший научный сотрудник, кандидат биол. наук;
Т. А. Мороз — старший научный сотрудник, кандидат биол. наук;
С. А. Шеметюк — соискатель;
И. Е. Приданова — старший научный сотрудник, кандидат биол. наук.

Статья поступила в редакцию 15.07.2022 г.

Original article
UDC 636.22/28.082

PROTEIN-LIPID METABOLISM IN SERVICING BULLS OF THE RED-MOTLEY BREED

Akhmedaga Imash ogly Abilov[*, **]✉, Mikhail Ivanovich Dunin[*], Tatyana Anatolyevna Moroz[*], Sergey Aleksandrovich Shemetyuk[2], Irina Evgenyevna Pridanova[1]

[*]All-Russian Research Institute of Animal Breeding, Korolev, Moscow region, Russia, ahmed.abilov@mail.ru✉
[**]Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L. K. Ernst, Dubrovitsy, Moscow region, Russia

Abstract. For the first time, the studies were carried out on the basis of monitoring protein-lipid metabolism in servicing bulls of the domestic Red-Motley breed aged 2—11 years, in the amount of 8 animals per day for obtaining semen in the conditions of the Black Earth region (Voronezh region). The studies were carried out by FSBSI All-Russian Research Institute of Animal Breeding, FSBSI Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L. K. Ernst and JSC Holding Head Center for the Reproduction of Farm Animals on the basis of JSC breeding enterprise «Voronezhskoe», using modern equipment and reagents (biochemical analyzer Chem-Well-2902 (Awareness Technology Inc., USA).
Based on the analysis of study results, it was found that the age of the bulls of breeding enterprises has a significant effect on the intensity of protein and lipid metabolism in their body. In the age group, including servicing bulls from 6 to 11 years old, the concentrations of total protein ($p < 0.05$), globulin ($p < 0.001$) and alkaline phosphatase ($p < 0.01$) increased by a significant value. In older servicing bulls, excesses of the physiological norm for the maximum content of creatinine and urea were also noted.
Keywords: bioelements, servicing bulls, age, breed, protein-lipid metabolism, urea, creatinine

INTRODUCTION

The efficacy of using servicing bulls, valuable in breeding terms, largely depends on the state of their health and reproductive qualities.

Biochemical studies of metabolic processes make it possible to determine disorders caused by the effect of various exogenous and endogenous factors already at the early stages.

Metabolic processes can be disturbed both with a deficiency and with an excess of many elements in the animal body.

Proteins, carbohydrates, fats constantly interact with minerals, forming peculiar complexes. If there is a lack or excess of protein in the body, then in this condition, first of all, phosphorus-calcium metabolism is disturbed (Reshetnikova N. M. et al., 2002). A low level of proteins in the diet or a lack of essential amino acids cause a weakening of the activity of all endocrine glands, and especially the pituitary and adrenal glands (Subbotin A. D., 2012).

The level of urea in combination with the concentration of albumin and glucose in the blood plasma can accurately show the balance of the diet in terms of energy-protein ratio and reveal a deficiency or excess of crude protein in the dry matter of the diet.

Lipids in the body of animals play a huge role as a source of energy and are good solvents for fat-soluble vitamins, etc. (Metreveli T. V., 2005). With an increase in the content of total lipids in the blood, the level of phospholipids decreases, as a result, the oxidation of fats in the liver is disturbed that leads to the accumulation of ketone bodies (Kuznetsov S. G., 2011).

When the body compensates for energy deficiency by burning fats, an increase in the concentration of cholesterol in the blood and the formation of ketone bodies occur that causes liver degeneration (Plemyashov K. V., 2010).

An increase in the concentration of total and direct (conjugated) bilirubin, high activity of AST and ALT are diagnostic tests for liver disease of alimentary etiology (Reshetnikova N. M. et al., 2002).

Creatinine, like urea, are products of protein metabolism in the body. With an increase in the concentration of urea in the blood, ammonia is intensively

© Abilov A. I. ogly, Dunin M. I., Moroz T. A., Shemetyuk S. A., Pridanova I. E., 2022

released, having a toxic effect on the body, suppressing the action of the gonads (Fomichev Yu.P., 2012, Yuan G., Al-Shali K.Z., Hegele R. A., 2017). The concentration of urea may increase in the blood serum in case of impaired renal function. The content of urea decreases with protein starvation, as well as with excessive protein intake and impaired absorption. A high content of direct bilirubin can cause liver disease, hepatitis and other diseases of the gastrointestinal tract.

By the content of cholesterol in the blood serum, one can judge the functional ability of the liver as it is part of cell membranes, and with its help more than 40 steroid hormones are synthesized in the body, including adrenal hormones that regulate carbohydrate and water-salt metabolism, as well as gonad hormones (estradiol and testosterone). With the help of cholesterol vitamin D is synthesized in the skin under the effect of ultraviolet rays. It is necessary for the absorption of calcium in the body.

Monitoring of the biochemical and endocrine status in high yielding animals is fundamental, since even at the earliest stages it can be used to detect violations of all types of metabolism: proteins, carbohydrates, lipids, vitamins, macro-microelements, hormones (Vladimirov V. L., 2004).

All deviations in feeding, keeping and exploitation of animals lead to metabolic disorders, reduced resistance, secondary immunodeficiency, high morbidity (80—90 %), and as a result reduced fertility (70—90 %).

With an increase in breeding value and productivity level, the intensity of metabolism and the hormonal status of bulls of a new genetic generation change. In this regard, there is a need to clarify the main indicators of biological processes occurring in the body of servicing bulls of the domestic Red-Motley breed and to use the new data obtained in improving the selection of high yielding cattle.

Aim and objectives of the research. To study the features of metabolic processes (protein-lipid, mineral) and the content of endogenous hormones (testosterone, estradiol, thyroxine, cortisol), as well as cholesterol in the blood serum of servicing bulls of the Red-Motley breed, depending on age, on the day of semen collection, in the conditions of the Black Earth region (Voronezh region, Russian Federation).

MATERIAL AND METHODS

The work was carried out by the employees of FSBSI All-Russian Research Institute of Animal Breeding, FSBSI Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L. K. Ernst and JSC Holding Head Center for the Reproduction of Farm Animals on the basis of JSC breeding enterprise «Voronezhskoe» in 2018—2019. In the experiments, 8 Red-Motley servicing bulls aged 2—11 years were used.

Animals were fed with a balanced diet according to the norms of FSBSI All-Russian Research Institute of Animal Breeding. The maintenance and exploitation of servicing bulls was carried out in accordance with the National Technology for the Keeping and Use of Semen of Servicing Bulls (under the general editorship of prof. Abilov A. I. and Reshetnikova N. M. M, 2008).

Blood for analysis was taken from the jugular vein into sterile test tubes within 30 minutes after the completion of semen collection.

The biochemical blood composition was studied on a Chem-Well-2902 biochemical analyzer (Awareness Technology Inc., USA) and a Kvant-2a atomic absorption spectrometer (Russia). The content of total protein, albumin, globulin and their ratio were determined, as well as the indicators such as cholesterol, bilirubin, creatinine, urea, alkaline phosphatase.

Cholesterol content was assessed on the Chem-Well-2902 automatic analyzer (Awareness Technology Inc., USA).

Statistical processing of the obtained material was carried out in the Microsoft Excel program. The tables show the means (M) and the error of the means (m), as well as the levels of statistical significance of the differences in the Student's t-test.

RESULTS

We carried out a comprehensive monitoring of the state of protein-lipid metabolism in servicing bulls of the Red-Motley breed of Voronezh type at the age of 2—11 years. The data obtained are presented in Table 1.

In the process of research, it was found that the blood serum level of total protein in servicing bulls of the Red-Motley breed was increased, its average value was 90.3 g/L, which was practically close to the upper limit of the physiological norm (the maximum value of the norm is 92 g/L). Despite the fact that this indicator was within the reference values, in a significant part of animals, the blood total protein reached a value of 109.33 g/L (by 19 % higher than the reference values). Such an increase in the blood content of total protein, in all likelihood, is due to a highly concentrated type of feeding, which is typical for all breeding enterprises in order to obtain a large amount of sperm production.

Table 1

Monitoring of protein-lipid metabolism in servicing bulls

Indicators	Mean indicators $M \pm m$	Actual variability		Reference values	Deviation from the maximum values
		min	max		
Total protein, g/L	90.3 ± 5.14	73.36	109.33	70—92	18.84 %
Albumin, g/L	31.7 ± 1.28	23.44	37.69	25—36	—
Globulin, g/L	58.6 ± 5.07	40.29	75.91	40—63	20.49 %
A:G	0.58 ± 0.06	0.4	0.82	0.4—0.8	2.50 %
Total cholesterol, mmol/L	2.3 ± 0.25	2.23	2.79	2.1—8.2	—
Total bilirubin, mmol/L	5.3 ± 0.57	2.81	7.49	1.16—8.15	—
Creatinine, μmol/L	139.5 ± 10.14	100.05	197.74	62—163	21.31 %
Urea, mmol/L	6.35 ± 0.60	3.97	8.41	2.4—7.5	12.13 %

The concentration of globulins was characterized by similar indicators. The average value for the entire group of bulls was within the reference values — 58.6 g/L (at a norm of 3—63 g/L). However, among the servicing bulls there were animals with indicators higher than the norm by 20 %. Thus, the increase in the content of total protein in the body of servicing bulls occurred due to globulin fractions.

We also studied the concentration of protein metabolism products in the body (creatinine and urea). As a result, there have been obtained the data that indicate that among the bulls there were individuals with elevated levels of creatinine by 21.3 %, urea — by 12.1 %, compared with the standard parameters, although the average values for these components did not go beyond the reference values.

The results of the study of protein-lipid metabolism in bulls of the Red-Motley breed, depending on age, are presented in Table 2. The first group included four bulls at the age of 2 years, the youngest, at the beginning of active exploitation. The second group included the same number of animals aged 6—11 years.

Table 2

Age-dependent state of protein-lipid metabolism in servicing bulls of the Red-Motley breed

Indicators	Servicing bulls		Difference	Significance
Age of bulls, years	2 years	6—11 years	4—9 years	
Total protein, g/L	75.38 ± 1.46	98.90 ± 4.86	23.02 / 0.34 %	$P < 0.05$
Albumin, g/L	33.07 ± 1.25	70.87 ± 1.92	–2.2 / 7.13 %	ND
Globulin, g/L	42.81 ± 1.36	68.09 ± 3.42	25.22 / 3.92 %	$P < 0.001$
A:G	0.78 ± 0.13	0.46 ± 0.02	–0.32 / 70.4 %	$P < 0.1$
Total cholesterol, mmol/L	2.50 ± 0.12	2.54 ± 0.11	0.04 / 1.70 %	ND
Total bilirubin, mmol/L	4.99 ± 1.36	5.44 ± 0.57	0.44 / 8.91 %	ND
Creatinine, mmol/L	117.7 ± 8.86	152.62 ± 2.26	34.92 / 23.67 %	$P < 0.1$
Urea, mmol/L	4.58 ± 1.86	6.21 ± 0.97	1.63 /35.7 %	ND

From the analysis of the material in Table 2, it follows that age plays a significant role in the metabolic processes in bulls, and as a result there are a number of differences between groups.

The level of total protein in the age group of animals (6—11 years old) was 98.9 g/L with the standard normal range of 70—92 g/L. This is by 23.0 g/L higher than in young bulls, in which the average total protein content was 75.9 g/L (difference 30.3 % with $P < 0.05$ significance).

Similar data were recorded for the content of the protein globulin fraction, with a significance difference of $P < 0.001$. In adult servicing bulls, the blood serum concentration of globulins was at the level of 68.09 g/L, which was by 25 g/L more than in young animals (42.8 g/L). The ratio of albumin to globulin was in favor of young animals — 0.78, at a normal rate of 0.40—0.80 units. In adult servicing bulls, this indicator was at the level of 0.46 units.

When studying the dependence of the content of total bilirubin on the age of animals, the following results were obtained: the mean value of this indicator in older bulls was 5.44 μmol/L, in young individuals — 4.99 μmol/L (difference 8.9 %). In the bulls of the older age group, an increased level of creatinine (152.62 μmol/L) was noted, against 117.7 μmol/L in the bulls at age of two years.

The difference between the experimental groups in terms of the content of this component in the blood serum was 23.7 %, at $P < 0.1$.

The analysis of the variability of the data obtained in the study showed the presence of deviations between the minimum and maximum actual indicators and the reference values of the studied parameters (Table 3).

Table 3

Age-dependent variability of the state of protein-lipid metabolism in servicing bulls of the Red-Motley breed

Indicators	Servicing bulls		Reference values
Age of bulls, years	2 years	6—11 years	
Total protein, g/L	73.36—75.38	81.64—109.33	70—92
Albumin, g/L	30.9—35.24	23.44—33.69	25—76
Globulin, g/L	40.24—44.98	58.20—75.91	40—63
A:G	0.69—0.82	0.4—0.51	0.4—0.8
Total cholesterol, mmol/L	2.26—2.62	2.23—2.79	2.1—8.2
Total bilirubin, mmol/L	2.81—7.49	4.17—7.49	1.36—8.15
Creatinine, mmol/L	100.05—127.9	132.27—197.74	62—163
Urea, mmol/L	5.67—7.4	3.97—8.41	2.4—7.5

From the data presented in Table 3, it follows that among young bulls, both the minimum and maximum parameters of the metabolic indicators were within the boundaries of the reference values. In older servicing bulls, excesses of the physiological norm for the maximum content of total protein, globulin, creatinine and urea were noted.

This can be explained by the concentrated type of feeding for servicing bulls, which is an essential factor for the formation of full-fledged spermatozoa that can withstand the «cold shock» during cryopreservation, and also necessary to obtain more valuable semen from an economic point of view.

DISCUSSION

As a result of our research, it has been established that the age of the Red-Motley servicing bulls plays a significant role in the state of their protein-lipid metabolism. Thus, there are significant differences between adult bulls in relation to young ones: in total protein ($P < 0.05$), creatinine ($P < 0.01$), alkaline phosphatase level ($P < 0.01$). Similar data were obtained by N. V. Bogolyubova et al. (2019) while studying the metabolic profile in the Holstein bulls. The authors note that more intensive use of servicing bulls with age leads to significant changes in protein metabolism (the content of total protein, its globulin fraction, as

well as creatinine, urea and some enzymes increase), which according to the researchers is associated with an increased load on the liver and animal cardiovascular system. The refined characteristics of the metabolic profile of the Red-Motley bulls, obtained in this study, reflecting their protein-lipid and mineral metabolism, as well as the age-related dynamics of endogenous hormones can be used to solve the problems of practical selection in programs of improving this breed and the technology of exploitation of servicing bulls kept at domestic breeding enterprises.

REFERENCES

1. *Abilov A. I.*, *Reshetnikova N. M.*, et al. National technology for freezing and using sperm of breeding bulls. — Moscow. — 2008. — 160 p.

2. *Bogolyubova N. V., Gusev I. V., Rykov R. A., Kombarova N. A.* Features of protein metabolism in servicing bulls of different ages// Molochnoe i myasnoe skotovodstvo (Dairy and beef cattle breeding). —2019. — No. 3. — P. 38—41.

3. *Vladimirov V. L., Samokhin V. T., Naumenko P. A., Ryzhkov V. A., Baranov Ya.M., Friberg R. V., Bodrov V. M.* On the issue of biochemical control in animal husbandry. In the book. Past, present and future of zootechnical science. Scientific works of VIZh, issue 62, v.3, Dubrovitsy. — 2004. — P. 17—22.

4. *Kuznetsov S. G., Zabolotnov L. A., Baranova I. A., Matyushenko P. V.* Recommendations for the reproduction of cattle. — Borovsk. — ZAO «Vitasol». — 2011. — 34 p.

5. *Metreveli T. V.* Biochemistry of animals: textbook. manual for university students studying in the specialty 310 700 — Zootechnics / T. V. Metreveli; ed. by N. S. Shevelev. — St. Petersburg. [et al.]: Lan, 2005. — 295, [1] p.: ill., tab.; 22 cm).

6. *Plemyashov K. V.* Reproductive functions of high yielding cows with metabolic disorders and its correction: abstract of a thesis … Doc. of Vet. Sciences (06.02.06) / K. V. Plemyashov. — St. Petersburg, 2010. — 38 p.

7. *Reshetnikova N. M., Lazarenko N. A., Moroz T. A., Malinovskiy A. M.* Guidelines for the reproduction of the dairy cattle herd. M. O. Ramenskoe. 2002. 96 p.

8. *Subbotin A. D.* Artificial insemination of cows and heifers. Dubrovitsy, GNU VIZh of the Russian Agricultural Academy. 2012., 126 p.

9. *Ulitko V. E.* Reproductive ability of cows when optimizing their diet with a zeolite-containing additive. // V. E. Ulitko, N. A. Lyubich, V. V. Kozlov, V. V. Akhmetova. «The role and significance of the method of artificial insemination of farm animals in the progress of animal husbandry in the 20th and 21st centuries. Materials of the international scientific and practical conference dedicated to the 100th anniversary since the birth of Professor *Sokolovskaya I. I.* Dubrovitsy. — 2004. — P. 283—285.

10. *Fomichev Yu.P.* Ketosis, the issue of productivity, reproduction, longevity and measures for its prevention in high yielding dairy cows. Practical use of modern scientific developments in the production and breeding of cattle. Materials of the plenary session of the international scientific conference. Dubrovitsy. GNU VIZh of the Russian Agricultural Academy. 2012. P. 47—79.

11. *Yuan G., Al-Shali K.Z., Hegele R. A.* Hypertriglyceridemia: its etiology, effects and treatment. Canadian Medical Association Journal 2017, 176(8): 1113—1120 (doi: 10.1503/cmaj.060963).

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

A. I. Abilov — Doctor of Biological Sciences, Professor;
M. I. Dunin — Senior Scientific Associate, Candidate of Biological Sciences;
T. A. Moroz — Senior Scientific Associate, Candidate of Biological Sciences;
S. A. Shemetyuk — Applicant for a Degree;
I. E. Pridanova — Senior Scientific Associate, Candidate of Biological Sciences.

The article was submitted 15.07.2022.

Научная статья
УДК 619:[632.938:618.2]:636.4
DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.3.172

МАРКЕРЫ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ У СВИНОМАТОК В ФЕТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД СУПОРОСНОСТИ

Алексей Гаврилович Шахов, Лариса Юрьевна Сашнина✉, Юлия Юрьевна Владимирова

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, l.yu.sashnina@mail.ru✉

Аннотация. В статье изучена информативность индексов иммунной реактивности в связи с изменением состояния свиноматок в фетальный период супоросности. Установлены изменения лейкоцитарного профиля, которые отражают иммунную перестройку, проявляющуюся в начале фетального периода (38—40 дни) снижением содержания нейтрофилов и повышением количества лимфоцитов на 38—40 дни, уменьшением числа лимфоцитов, увеличением уровня лейкоцитов, нейтрофилов на 78—81 сутки и эозинофилов и моноцитов во все сроки исследований. Отмеченные изменения значений индексов иммунореактивности свидетельствуют об иммунной перестройке свиноматок в период супоросности, направленной на формирование толерантности их организма к антигенам эмбрионов, предотвращение их отторжения и обеспечение физиологического течения беременности и развития плодов.

Ключевые слова: свиноматки, супоросность, кровь, лейкоцитарный профиль, индексы иммунореактивности

Супоросность является важнейшим периодом воспроизводства свиней, в течение которой происходит повышение активности эндокринных и метаболических процессов, вызванных усиленной дифференциацией клеток, формированием новых органов и тканей, многократным увеличением массы зародышей [1].

К одному из критических периодов в течение супоросности свиноматок относится фетальный период, начинающийся с 30-х суток после оплодотворения, в который происходит начало формирования органов, систем и костных тканей плодов [2].

О состоянии иммунологической реактивности в разные периоды супоросности, изучение которой относится к одной из актуальных задач ветеринарной науки и практики [3, 4], можно судить по лейкоцитарному профилю периферической крови [5]. Известно, что ее морфологический состав отражает состояние многих физиологических функций в организме животных и характеризует иммунный статус, так как связан с функциональной активностью внутренних органов и тканей и изменяется под действием различных экзо- и эндогенных факторов [5, 6]. Для оценки иммунного статуса широко применяются лейкоцитарные индексы, отражающие взаимосвязи лейкоцитарных клеток крови [5, 7] и не требующие проведения дополнительных исследований. Установлено, что они позволяют оценить работу эффекторных механизмов иммунной системы и уровень иммунологической реактивности, определяющих процесс формирования неспецифических адаптационных реакций [5—8]. Направленность изменений лейкоцитарных индексов, отражающих состояние иммунной системы организма, у свиноматок в период супоросности изучена недостаточно.

Целью явилось изучение значимости и информативности индексов иммунной реактивности в связи с изменением состояния свиноматок в фетальный период супоросности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проведены на клинически здоровых свиноматках трехпородного скрещивания (крупная белая + ландрас + дюрок) 3—4 опороса на базе промышленного свиноводческого хозяйства Воронежской области.

Кровь для исследований брали у свиноматок (n = 15) за 5—7 дни до осеменения и на 38—40 и 78—81 сутки супоросности. В крови определяли содержание лейкоцитов и лейкоформулу.

© Шахов А. Г., Сашнина Л. Ю., Владимирова Ю. Ю., 2022

По лейкограмме крови были рассчитаны интегральные лейкоцитарные индексы:

— отношение суммы гранулоцитов к сумме моноцитов и лимфоцитов — кровяно-клеточный показатель (ККП),

— отношение произведения нейтрофилов к произведению суммы лимфоцитов, базофилов и моноцитов на процент эозинофилов — реактивный ответ нейтрофилов (РОН),

— отношение лимфоцитов в десятикратном увеличении к сумме гранулоцитов — лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (ИЛГ),

— отношение нейтрофилов к лимфоцитам (ИСНЛ) [5].

Полученные данные статистически обрабатывали с использованием программы «Statistica 8.0» (Stat Soft Inc., США) и «Microsoft Excel», оценку значимости различий средних арифметических — по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

У свиноматок содержание лейкоцитов, участвующих в большинстве иммунологических реакций, увеличилось на 11,0 % на 78—81 день супоросности, что связано с иммунной перестройкой организма (табл.).

В лейкоцитарном профиле отмечали снижение относительного количества палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов на 38—40 сутки на 30,2 и 6,3 % и повышение их содержания к 78—81 дню на 74,3 и 6,8 % соответственно.

Таблица

Морфологические показатели и лейкоцитарные индексы у свиноматок

Показатели	До осеменения	Сроки супоросности, сутки	
		38—40	78—81
Лейкоциты, 10^9/л	15,5 ± 0,75	15,7 ± 0,77	17,2 ± 0,78
Нейтрофилы: юные, %	—	—	—
палочкоядерные, %	4,3 ± 0,24	3,0 ± 0,23**	5,2 ± 0,41**
сегментоядерные, %	42,9 ± 0,9	40,2 ± 1,59	42,92 ± 0,57
Эозинофилы, %	3,2 ± 0,27	4,36 ± 0,25**	4,69 ± 0,31
Базофилы, %	0,14 ± 0,09	0,36 ± 0,028*	0,92 ± 0,24*
Моноциты, %	3,1 ± 0,23	4,0 ± 0,25*	5,23 ± 0,28**
Лимфоциты, %	46,3 ± 0,77	47,9 ± 1,27	41,2 ± 0,59***
КПП	1,01 ± 0,008	0,93 ± 0,006**	1,10 ± 0,005***
РОН	1,13 ± 0,017	0,53 ± 0,002**	1,04 ± 0,002***
ИЛГ	9,16 ± 0,031	9,90 ± 0,044**	7,82 ± 0,051***
ИСНЛ	1,01 ± 0,007	0,89 ± 0,006**	1,15 ± 0,004***

* $P < 0,05$
** $P < 0,01$
*** $P < 0,001$ — по отношению к предыдущему периоду

Количество эозинофилов, участвующих в разрушении и обезвреживании токсинов белкового происхождения, в период супоросности увеличилось на 36,3 % (38—40 сутки) и 7,6 % (78—81 дни), что является ответом на стимуляцию антигенами, а также связано с аутоинтоксикацией в период беременности и отражает максимальную активность процессов пролиферации и элиминации гранулоцитов из костного мозга [9]. Содержание базофилов, выделяющих широкий спектр биоло-

гически активных веществ (гистамин, гепарин, серотонин, катехоламины, цитокины, липидные медиаторы и др.) [10] и выполняющих противовоспалительную и иммуномодулирующую функцию [11], возросло на 38—40 день супоросности в 2,6 раза и на 78—81 сутки в 2,5 раза.

Количество моноцитов, обладающих выраженной фагоцитарной активностью, играющих ключевую роль в распознавании антигенов и участвующих в формировании и регуляции иммунного ответа, в указанные сроки увеличилось на 29,0 и 30,8 %, что указывало на активацию адаптационных реакций.

Относительное содержание лимфоцитов, обеспечивающих формирование специфического иммунитета, повысилось незначительно на 38—40 сутки на 3,5 %, а на 78—81 дни снизилось на 16,3 %. Снижение числа лимфоцитов, продуцирующих прогестерон-индуцированный блокирующий фактор, воздействующий на естественные киллерные клетки, у свиноматок при увеличении сроков беременности является физиологичным и обеспечивает толерантность организма матери к антигенам плодов [12].

Изменения морфологической структуры крови у супоросных свиноматок в фетальный период обусловлены влиянием аллоантигенов плодов, вызывающих сенсибилизацию организма матери и формирование ответных иммунных реакций [13, 14].

Иммунологическая реактивность организма супоросных свиноматок обеспечивается за счет превалирования функциональной активности нейтрофилов или лимфоцитов в зависимости от сроков беременности [5], что подтверждается разнонаправленностью изменений значений индексов: ККП, РОН, ИСНЛ, ИЛГ, отражающих взаимосвязи иммунокомпетентных клеток [5, 7].

Установлено, что кровяно-клеточный показатель, отражающий отношение гранулоцитов к мононуклеарам, у свиноматок на 38—40 дни супоросности был на 7,9 % ниже исходного значения (до осеменения) в результате уменьшения количества нейтрофилов и повышения содержания лимфоцитов и моноцитов, что свидетельствует о развитии адаптивного иммунного ответа на антигены плодов.

В более поздние сроки супоросности (78—81 дни) отмечено увеличение значения КПП на 18,3 % по сравнению с предыдущим периодом, обусловленное повышением содержания нейтрофилов, эозинофилов и снижением количества лимфоцитов, и указывает на повышение функциональной активности гранулоцитов, обеспечивающих реакции неспецифической защитной системы организма [8]

Величина лимфоцитарно-гранулоцитарного индекса (ИЛГ), характеризующая отношение лимфоцитов к клеткам гранулоцитарного ряда, на 38—40 сутки супоросности повысилась на 8,1 %, а к 78—81 дню снизилась на 26,6 %, что отражает снижение активности лимфоцитов с увеличением сроков супоросности наряду с активацией микрофагального звена иммунитета.

Снижение на 38—40 день супоросности индекса соотношения нейтрофилов и лимфоцитов (ИСНЛ) на 11,9 %, а затем на 78—81 сутки повышение на 29,2 %, указывает на возрастание активности неспецифической резистентности, что компенсирует снижение адаптивного иммунитета и тем самым повышает устойчивость матери и плода к возбудителям инфекции [15].

Увеличение содержания эозинофилов и моноцитов на фоне уменьшения количества нейтрофилов на 38—40 дни супоросности привело к снижению значения индекса реактивного ответа нейтрофилов (РОН) в 2,1 раза и свидетельствовало о высокой степени антигенной нагрузки на организм. На 78—81 дни отмечено повышение РОН в 1,96 раза, связанное с активацией нейтрофилогенеза и сформировавшейся толерантностью к антигенам плодов.

Установленные изменения согласуются с концепцией регуляции иммунной системы при беременности, предложенной Фироном-Локси [16], в которой говорится, что клеточные и растворимые продукты плаценты обладают разнонаправленным модулирующим действием на врожденное и приобретенное звенья иммунной системы матери, что приводит к подавлению специфического иммунного ответа и усилению неспецифического. При этом супрессия специфического звена иммунной системы не просто сопровождается, но и компенсируется активацией системы неспецифического иммунитета [16].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, с наступлением супоросности в процессе имплантации эмбрионов и формирования плодов устанавливаются сложные иммунологические взаимоотношения в системе «мать-плод», обеспечивающие толерантность свиноматки к антигенам плодов и препятствующие их отторжению. Установлено, что изменения лейкоцитарного профиля в период супоросности характеризовались снижением содержания нейтрофилов и повышени-

ем количества лимфоцитов на 38—40 дни, уменьшением числа лимфоцитов, увеличением уровня лейкоцитов, нейтрофилов на 78—81 сутки и эозинофилов и моноцитов во все сроки исследований. Изменения значений лейкоцитарных индексов свидетельствуют об иммунной перестройке свиноматок в период супоросности, направленной на формирование толерантности их организма к антигенам эмбрионов и обеспечение физиологического течения беременности и развития плодов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Гимадеева Л. С.* Биохимический и клинический статус супоросных свиноматок / Л. С. Гимадеева, И. В. Гусев, Р. А. Рыков, М. В. Покровская // Свиноводство. — 2013. — № . 8. — С. 8—9.

2. *Хлопицкий В. П.* Периодизация внутриутробного развития плодов и патологии репродукции / В. П. Хлопицкий // Свиноводство. — 2021. — № . 3. — С. 49—54.

3. *Шахов А. Г.* Влияние комплексного препарата на основе интерферонов на иммунный статус свиноматок и его эффективность при профилактике послеродовых болезней /А. Г. Шахов, Л. Ю. Сашнина, М. Ю. Жейнес, Ю. Ю. Владимирова, Н. В. Карманова // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2020. — № . 2 (11). — С. 49—54. DOI: 10.17238/issn2541—8203.2020.2.49

4. *Бригадиров Ю. Н.* Влияние альфа и гамма интерферонов и их сочетания с аминоселетоном и диметилдипиразолилселенидом на показатели белкового обмена свиноматок в разные периоды их физиологического состояния / Ю. Н. Бригадиров, В. Н. Коцарев, Г. Г. Чусова, А. Э. Лобанов, Н. П. Мещерякова, В. И. Моргунова // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2019. — № . 3(8). — С. 77—84. DOI: 10.17238/issn2541—8203.2019.3.77

5. *Чуличкова С. А.* Лейкоцитарные индексы как индикатор иммунного статуса организма коров на ранних сроках стельности / С. А. Чуличкова, М. А. Дерхо // АПК России. — 2016. — Т. 75. — № . 1. — С. 42—46.

6. *Харлап С. Ю.* Особенности лейкограммы цыплят в ходе развития стресс-реакции при моделированном стрессе / С. Ю. Харлап, М. А. Дерхо, Т. И. Середа // Известия ОГАУ. — 2015. — № .2(52). — С. 103—105.

7. *Романова Е. Б.* Лейкоцитарные индексы и микроядра в эритроцитах как популяционные маркеры иммунного статуса *PELOPHYLAX RIDIBUNDUS* (PALLAS, 1771) (AMPHIBIA: RANIDAE), обитающих в различных биотопических условиях / Е. Б. *Романова Е. Б.* Романова, К. В. Шаповалова, Е. С. Рябинина, Д. Б. Гелашвили // Поволжский экологический журнал. — 2018 — № . (1) — С. 60—75. https://doi.org/10.18500/1684-7318-2018-1-60-75

8. *Ткаченко Е. А.* Лейкоцитарные индексы при экспериментальной кадмиевой интоксикации мышей / Е. А. Ткаченко, М. А. Дерхо // Известия ОГАУ. — 2014. — № . 3(47). — С. 81—83.

9. *Хрустова Н. П.* Изменение гематологических показателей крови при физиологической беременности / Н. П. Хрустова, Н. Н. Покрыщенко // Здравоохранение Дальнего Востока. — 2012. — № . 3. — С. 15—18.

10. *Параскун А. А.* Динамика изменений плотности пространственного распределения тканевых базофилов щитовидной железы в первой половине беременности / А. А. Параскун, С. Ю. Виноградов, М. А. Штойко, Н. В. Сорокина, Т. Н. Пономарева // Российский иммунологический журнал. — 2012. — № . 4. — С. 57—58.

11. *Уханова О. П.* Современные представления о программированной гибели тучных клеток и базофилов при аллергическом воспалении / О. П. Уханова //Аллергология и иммунология. — 2009. — Т. 10. — № . 4. — С. 463—468.

12. *Тетруашвили Н. К.* Роль иммунных взаимодействий на ранних этапах физиологической беременности и при привычном выкидыше / Н. К. Тетруашвили // Иммунология. —2008. — № . 2. — С. 124—129. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2016.7.5—10

13. *Иванов И. И.* Динамика уровня циркулирующих иммунных комплексов при лечении преэклампсии / И. И. Иванов, Е. Н. Прочан, М. В. Черипко, Н. В. Косолапова // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. — 2011. — № . 3—4. — С. 37—42

14. *Okaform S. C.* Hematological changes associated with pregnancy in domestic sows / S. C. Okaform, C. U. Chukwudi, K. C. Okanya, J. I. Ihedioha // Agricultural Science Digest. — D-307- P. 1—6.

15. *Lampe R.* Phagocytic index of neutrophil granulocytes and monocytes in healthy and preeclamptic pregnancy/ R. Lampe, A. Kover, S. Szucs, L. Pal, E. Arnyas, R. Adany, R. Poka// J. Reprod Immunol. —2015. — V. —107. — P. 26—30.

16. *Каштальян О. А.* Особенности иммунной системы беременных / О. А. Каштальян // Вопросы организации и информатизации здравоохранения. — 2008. — № . 1. — С. 45—50.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

А. Г. Шахов — доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник лаборатории иммунологии;

Л. Ю. Сашнина — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник лаборатории иммунологии;

Ю. Ю. Владимирова — младший научный сотрудник лаборатории иммунологии.

Статья поступила в редакцию 29.06.2022 г.

Original article
UDC 619:[632.938:618.2]:636.4

MARKERS OF IMMUNOLOGICAL REACTIVITY IN SOWS IN THE FETAL PERIOD OF GESTATION

Aleksey Gavrilovich Shakhov, Larisa Yuryevna Sashnina✉, Yuliya Yuryevna Vladimirova

All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia, l.yu.sashnina@mail.ru✉

Abstract. The article represents the studies on the informational content of immune reactivity indices in connection with changes in the state of sows during the fetal period of gestation. Changes in the leukocyte profile were established, which reflect the immune restructuring that manifests itself at the beginning of the fetal period (38—40 days) by a decrease in the content of neutrophils and an increase in the number of lymphocytes on days 38—40, a decrease in the number of lymphocytes, an increase in the level of leukocytes, neutrophils on days 78—81 and eosinophils and monocytes in all periods of research. The noted changes in the values of the immunoreactivity indices indicate the immune restructuring of sows during the gestation period, aimed at forming their body's tolerance to embryonic antigens, preventing their rejection and ensuring the physiological gestation course and fetal development.

Keywords: sows, gestation, blood, leukocyte profile, immunoreactivity indices

Gestation is the most important period of pig reproduction, during which there is an increase in the activity of endocrine and metabolic processes caused by increased cell differentiation, the formation of new organs and tissues, and a multiple increase in the mass of embryos [1].

One of the critical periods during the gestation of sows is the fetal period, starting from day 30 after fertilization, in which the formation of organs, systems and bone tissues of the fetus begins [2].

The state of immunological reactivity in different periods of gestation, the study of which is one of the urgent tasks of veterinary science and practice [3, 4], can be judged by the leukocyte profile of peripheral blood [5]. It is known that its morphological composition reflects the state of many physiological functions in the animal body and characterizes the immune status, since it is associated with the functional activity of internal organs and tissues and changes under the effect of various exogenous and endogenous factors [5, 6]. To assess the immune status, leukocyte indices are widely used, which reflect the relationship of the leukocyte blood cells [5, 7] and do not require additional studies. It has been established that they make it possible to assess the work of the effector mechanisms of the immune system and the level of immunological reactivity, which determine the process of formation of nonspecific adaptive reactions [5—8]. The direction of changes in leukocyte indices, reflecting the state of the body's immune system, has not been studied enough in sows during gestation. The objective was to study the significance and informational content of the immune reactivity indices in connection with the change in the state of sows during the fetal period of gestation.

MATERIAL AND METHODS

The studies were carried out on clinically healthy sows of three-breed crossing (Large White + Landrace + Duroc) of the 3rd-4th farrowing on the basis of an industrial pig breeding farm in Voronezh region.

Blood for research was taken from sows (n = 15) 5—7 days before insemination and on days 38—40 and 78—81 of gestation. The content of leukocytes and the leukocyte formula were determined in the blood.

According to the blood leukogram, integral leukocyte indices were calculated:

— the ratio of the sum of granulocytes to the sum of monocytes and lymphocytes — blood cell index (BCI);

— the ratio of the product of neutrophils to the product of the sum of lymphocytes, basophils and monocytes by the percentage of eosinophils — the reactive response of neutrophils (RRN);

— the ratio of lymphocytes in a tenfold increase to the amount of granulocytes — lymphocytic-granulocytic index (LGI);

© Shakhov A. G., Sashnina L. Yu., Vladimirova Yu. Yu., 2022

— the ratio of neutrophils to lymphocytes (RNL) [5].

The obtained data were statistically processed using the program Statistica 8.0 (Stat Soft Inc., USA) and Microsoft Excel, the assessment of the significance of differences in arithmetic means — by the Student's test.

RESULTS AND DISCUSSION

In sows, the content of leukocytes involved in most immunological reactions has increased by 11.0 % on days 78—81 of gestation that is associated with immune restructuring of the body (Table).

Table

Morphological indicators and leukocyte indices in sows

Indicators	Before insemination	Gestation period, days	
		38—40	78—81
Leukocytes, 10^9/L	15.5 ± 0.75	15.7 ± 0.77	17.2 ± 0.78
Neutrophils: young, %	—	—	—
stab, %	4.3 ± 0.24	3.0 ± 0.23**	5.2 ± 0.41**
segmented, %	42.9 ± 0.9	40.2 ± 1.59	42.92 ± 0.57
Eosinophils, %	3.2 ± 0.27	4.36 ± 0.25**	4.69 ± 0.31
Basophils, %	0.14 ± 0.09	0.36 ± 0.028*	0.92 ± 0.24*
Monocytes, %	3.1 ± 0.23	4.0 ± 0.25*	5.23 ± 0.28**
Lymphocytes, %	46.3 ± 0.77	47.9 ± 1.27	41.2 ± 0.59***
BCI	1.01 ± 0.008	0.93 ± 0.006**	1.10 ± 0.005***
RRN	1.13 ± 0.017	0.53 ± 0.002**	1.04 ± 0.002***
LGI	9.16 ± 0.031	9.90 ± 0.044**	7.82 ± 0.051***
RNL	1.01 ± 0.007	0.89 ± 0.006**	1.15 ± 0.004***

* $P < 0.05$
** $P < 0.01$
*** $P < 0.001$ — in relation to the previous period

In the leukocyte profile, there was a decrease in the relative number of stab and segmented neutrophils by 30.2 and 6.3 % on days 38—40 and an increase in their content by 74.3 and 6.8 % on days 78—81, respectively.

The number of eosinophils involved in the destruction and neutralization of toxins of protein origin increased by 36.3 % (38—40 days) and 7.6 % (days 78—81) during gestation, which is a response to antigen stimulation, and is also associated with autointoxication during gestation and reflects the maximum activity of the processes of proliferation and elimination of granulocytes from the bone marrow [9].

The content of basophils that secrete a wide range of biologically active substances (histamine, heparin, serotonin, catecholamines, cytokines, lipid mediators, etc.) [10] and perform anti-inflammatory and immunomodulatory functions [11] increased by 2.6 times on days 38—40 of gestation and by 2.5 times on days 78—81.

The number of monocytes with a pronounced phagocytic activity, which play a key role in antigen recognition and participate in the formation and regulation of the immune response, increased by 29.0 and 30.8 % within the indicated periods that indicated the activation of adaptive reactions.

The relative content of lymphocytes, providing the formation of specific immunity, increased slightly by 3.5 % on days 38—40, and decreased by 16.3 % on days 78—81. A decrease in the number of lymphocytes

producing a progesterone-induced blocking factor that affects natural killer cells in sows with an increase in gestational age is physiological and ensures the tolerance of the mother's body to fetal antigens [12].

Changes in the morphological blood structure in pregnant sows during the fetal period are due to the effect of fetal alloantigens, which cause sensitization of the mother's body and the formation of immune responses [13, 14].

The immunological reactivity of the body of pregnant sows is ensured by the prevalence of the functional activity of neutrophils or lymphocytes depending on the period of gestation [5] that is confirmed by the multidirectional changes in the values of the indices: BCI, RRN, RNL, LGI, reflecting the relationship of immunocompetent cells [5, 7].

It was found that the blood cell index, which reflects the ratio of granulocytes to mononuclear cells, was by 7.9 % lower in sows on days 38—40 of gestation than the initial value (before insemination) as a result of a decrease in the number of neutrophils and an increase in the content of lymphocytes and monocytes that indicates development of an adaptive immune response to fetal antigens.

In later periods of gestation (days 78—81), there was noted an increase by 18.3 % in the value of the BCI, compared with the previous period, due to an increase in the content of neutrophils, eosinophils and a decrease in the number of lymphocytes. It indicates an increase in the functional activity of granulocytes, providing reactions of a nonspecific defense system [8]

The value of the lymphocyte-granulocytic index (LGI), which characterizes the ratio of lymphocytes to cells of the granulocytic series, increased by 8.1 % on days 38—40 of gestation, and decreased by 26.6 % on days 78—81 that reflects a decrease in the activity of lymphocytes with an increase in periods of gestation along with the activation of the microphage link of immunity.

A 11.9 % decrease in the neutrophil and lymphocyte ratio index (RNL) on days 38—40 of gestation, and then an increase by 29.2 % on days 78—81, indicates an increase in the activity of nonspecific resistance that compensates for the decrease in adaptive immunity and thereby increases the resistance of the mother and fetus to infectious agents [15].

An increase in the content of eosinophils and monocytes against the background of a decrease in the number of neutrophils on days 38—40 of gestation led to a decrease in the value of the index of reactive response of neutrophils (RRN) by 2.1 times and indicated a high degree of antigenic load on the body. On days 78—81, an increase in RRN by 1.96 times was noted, associated with the activation of neutrophilogenesis and the formed tolerance to fetal antigens.

The established changes are consistent with the concept of regulation of the immune system during gestation proposed by Fearon-Loxy [16], which states that cellular and soluble products of the placenta have a multidirectional modulating effect on the innate and acquired parts of the mother's immune system that leads to suppression of the specific immune response and amplification of the non-specific one. At the same time, the suppression of a specific link of the immune system is not only accompanied, but also compensated by the activation of the nonspecific immunity system [16].

CONCLUSION

Thus, with the onset of gestation, in the process of implantation of embryos and the formation of fetuses, complex immunological relationships are established in the mother-fetus system, which ensure the tolerance of the sow to fetal antigens and prevent their rejection. It was established that changes in the leukocyte profile during gestation were characterized by a decrease in the content of neutrophils and an increase in the number of lymphocytes on days 38—40, a decrease in the number of lymphocytes, an increase in the level of leukocytes, neutrophils on days 78—81 and eosinophils and monocytes in all periods of research. Changes in the values of leukocyte indices indicate the immune restructuring of sows during gestation, aimed at the formation of tolerance of their body to embryonic antigens and ensuring the physiological course of gestation and fetal development.

REFERENCES

1. *Gimadeeva L. S.* Biochemical and clinical status of pregnant sows / L. S. Gimadeeva, I. V. Gusev, R. A. Rykov, M. V. Pokrovskaya // Svinovodstvo (Pig breeding). — 2013. — No. 8. — P. 8—9.

2. *Khlopitskiy V. P.* Periodization of intrauterine development of fetuses and pathology of reproduction / V. P. Khlopitskiy // Svinovodstvo (Pig breeding). — 2021. — No. 3. — P. 49—54.

3. *Shakhov A. G.* The effect of the complex drug based on interferons on the immune status of sows and its efficacy in prevention of postpartum diseases /A. G. Shakhov, L. Yu. Sashnina, M. Yu. Zheynes, Yu. Yu. Vladimirova, N. V. Karmanova // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2020. — No. 2 (11). — P. 49—54. DOI: 10.17238/issn2541—8203.2020.2.49.

4. *Brigadirov Yu. N.,* Effect of interferons alpha and gamma and their combination with aminoseleton and di-

methyldipyrazolyl selenide on indicators of protein metabolism in sows in different periods of their physiological state / Yu. N. Brigadirov, V. N. Kotsarev, G. G. Chusova, A. E. Lobanov, N. P. Meshcheryakova, V. I. Morgunova // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2019. — No. 3(8). — P. 77—84. DOI: 10.17238/issn2541—8203.2019.3.77.

5. *Chulichkova S. A.* Leukocyte indices as an indicator of the immune status of the body of cows in the early stages of pregnancy / S. A. Chulichkova, M. A. Derkho // APK of Russia. — 2016. — V. 75. — No. 1. — P. 42—46.

6. *Kharlap S. Yu.* Features of the leukogram of chickens during the development of a stress reaction under simulated stress / S. Yu. Kharlap, M. A. Derkho, T. I. Sereda // Izvestiya OGAU (Proceedings of OSAU). — 2015. — No.2(52). — P. 103—105.

7. *Romanova E. B.* Leukocyte indices and micronuclei in erythrocytes as population markers of the immune status of PELOPHYLAX RIDIBUNDUS (PALLAS, 1771) (AMPHIBIA: RANIDAE) living in various biotope conditions / E. B. Romanova, K V. Shapovalova, E. S. Ryabinina, D. B. Gelashvili // Povolzhskiy ekologicheskiy zhurnal (Volga Ecological Journal). — 2018 — No. (1) — S. 60—75. https://doi.org/10.18500/1684-7 318-2018-1-60-75.

8. *Tkachenko E. A.* Leukocyte indices in mice with experimental cadmium intoxication / E. A. Tkachenko, M. A. Derkho // Izvestiya OGAU (Proceedings of OSAU). — 2014. — No. 3(47). — P. 81—83.

9. *Khrustova N. P.* Changes in hematological blood indicators during physiological pregnancy / N. P. Khrustova, N. N. Pokryshchenko // Zdravookhranenie Dalnego Vostoka (Healthcare of the Far East). — 2012. — No. 3. — P. 15—18.

10. *Paraskun A. A.* Dynamics of changes in the density of the spatial distribution of tissue basophils of the thyroid gland in the first half of pregnancy / A. A. Paraskun, S. Yu. Vinogradov, M. A. Shtoyko, N. V. Sorokina, T. N. Ponomarev // Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal (Russian Journal of Immunology). — 2012. — No. 4. — P. 57—58.

11. *Ukhanova O. P.* Modern ideas about the programmed death of mast cells and basophils in case of an allergic inflammation / O. P. Ukhanova // Allergologiya i immunologiya (Allergology and Immunology). — 2009. — V. 10. — No. 4. — P. 463—468.

12. *Tetruashvili N. K.* The role of immune interactions in the early stages of physiological pregnancy and recurrent miscarriage / N. K. Tetruashvili // Immunologiya (Immunology). —2008. — No. 2. — P. 124—129. https://dx.doi.org/10.18565/aig.2016.7.5—10.

13. *Ivanov I. I.* Dynamics of the level of circulating immune complexes in the treatment of preeclampsia / I. I. Ivanov, E. N. Prochan, M. V. Cheripko, N. V. Kosolapova // Krymskiy zhurnal eksperimentalnoy i klinicheskoy meditsiny (Crimean Journal of Experimental and Clinical Medicine). — 2011. — No. 3—4. — P. 37—42

14. *Okaform S. C.* Hematological changes associated with pregnancy in domestic sows / S. C. Okaform, C. U. Chukwudi, K. C. Okanya, J. I. Ihedioha // Agricultural Science Digest. — D-307- P. 1—6.

15. *Lampe R.* Phagocytic index of neutrophil granulocytes and monocytes in healthy and preeclamptic pregnancy/ R. Lampe, A. Kover, S. Szucs, L. Pal, E. Arnyas, R. Adany, R. Poka// J. Reprod Immunol. —2015. — V. —107. — P. 26—30.

16. *Kashtalyan O. A.* Features of the immune system of pregnant women / O. A. Kashtalyan // Issues of organization and informatization of healthcare (Voprosy organizatsii i informatizatsii zdravookhraneniya). — 2008. — No. 1. — P. 45—50.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

A. G. Shakhov — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Corresponding Member of the RAS, Chief Scientific Associate of the Laboratory of Immunology;

L. Yu. Sashnina — Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate of the Laboratory of Immunology;

Yu. Yu. Vladimirova — Junior Scientific Associate of the Laboratory of Immunology.

The article was submitted 29.06.2022.

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, содержащие 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 статьи, 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 авто-ре (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».

Дата выхода в свет 00.00.2022. Формат 60 × 84⅛
Свободная цена
Усл. печ. л. 21,39. Тираж 500 экз. Заказ 157

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

Адрес издательства:
ООО Издательско-полиграфический центр «Научная книга»
394018, г. Воронеж, ул. Никитинская, 38, оф. 308
Тел.: +7 (473) 200-81-02, 229-77-33
http://www.n-kniga.ru E-mail: zakaz@n-kniga.ru

Отпечатано в типографии ООО ИПЦ «Научная книга»
394026, г. Воронеж, Московский пр-т, 11/5
Тел.: +7 (473) 229-32-87
http://www.n-kniga.ru E-mail: typ@n-kniga.ru