

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 10.06.2024 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	4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (биологические науки), 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (ветеринарные науки)	с 01.02.2022
		1.5.4. Биохимия (ветеринарные науки), 1.5.5. Физиология человека и животных (ветеринарные науки), 3.1.22. Инфекционные болезни (ветеринарные науки), 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология (ветеринарные науки), 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология (биологические науки), 4.2.2. Санитария, гигиена, экология, ветеринарно-санитарная экспертиза и биобезопасность (ветеринарные науки), 4.2.2. Санитария, гигиена, экология, ветеринарно-санитарная экспертиза и биобезопасность (биологические науки), 4.2.4. Частная зоотехния, кормление, технологии приготовления кормов и производства продукции животноводства (сельскохозяйственные науки), 4.2.4. Частная зоотехния, кормление, технологии приготовления кормов и производства продукции животноводства (биологические науки), 4.2.5. Разведение, селекция, генетика и биотехнология животных (сельскохозяйственные науки), 4.2.5. Разведение, селекция, генетика и биотехнология животных (биологические науки), 4.2.6. Рыбное хозяйство, аквакультура и промышленное рыболовство (сельскохозяйственные науки), 4.2.6. Рыбное хозяйство, аквакультура и промышленное рыболовство (биологические науки)	с 13.10.2022

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

Журнал постоянно 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, 1146

Тел./факс +7 (473) 253-92-81

<http://www.nivipat.ru> E-mail: [vetfarm.journal@yandex.ru](mailto:vETFarm.journal@yandex.ru)

BULLETIN OF VETERINARY PHARMACOLOGY

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

FOUNDER AND PUBLISHER

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

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

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

EDITORIAL BOARD

Chief Editor

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

Deputy Chief Editor

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

Tkacheva Yuliya Aleksandrovna — Executive Secretary

EDITORIAL COUNCIL

Chairman

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

Editorial Council Members

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

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

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

Donnik Irina Mikhaylovna — Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of the RAS, Presidium Member of Ural Branch of the RAS, Russia

Duskaev Galimzhan Kalikhanovich — Doctor of Biological Sciences, First Deputy Director, Professor of the RAS, Associate Professor of the Federal Scientific Center for Biological Systems and Agricultural Technologies of the Russian Academy of Sciences (FSBSI FSC BST RAS), Russia

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

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

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

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

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

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

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

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

Safonov Vladimir Aleksandrovich — Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Evolutionary Biogeochemistry and Geoecology of the 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 (GEOKhI of the RAS)

Stekolnikov Anatoliy Aleksandrovich — Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of the RAS, Department of General, Special and Operative Surgery of FSBEI HE "Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine", Russia

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

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

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

Bulletin of Veterinary Pharmacology is included in the list of peer-reviewed scientific periodicals, in which the main scientific results of dissertations for the degree of Candidate of Sciences, for the degree of Doctor of Sciences must be published (as of June 10, 2024)

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	4.2.3. Infectious diseases and animal immunology (Biological Sciences), 4.2.3. Infectious diseases and animal immunology (Veterinary Sciences)	Since February 01, 2022
		1.5.4. Biochemistry (Veterinary Sciences), 1.5.5. Physiology of humans and animals (Veterinary Sciences), 3.1.22. Infectious diseases (Veterinary Sciences), 4.2.1. Animal pathology, morphology, physiology, pharmacology and toxicology (Veterinary Sciences), 4.2.1. Animal pathology, morphology, physiology, pharmacology and toxicology (Biological Sciences), 4.2.2. Sanitation, hygiene, ecology, veterinary and sanitary examination and biosafety (Veterinary Sciences), 4.2.2. Sanitation, hygiene, ecology, veterinary and sanitary examination and biosafety (Biological Sciences), 4.2.4. Special zootechnics, feeding, technologies for preparing feeds and producing livestock products (Agricultural Sciences), 4.2.4. Special zootechnics, feeding, technologies for preparing feeds and producing livestock products (Biological Sciences), 4.2.5. Animal breeding, selection, genetics and biotechnology (Agricultural Sciences), 4.2.5. Animal breeding, selection, genetics and biotechnology (Biological Sciences), 4.2.6. Fish breeding, aquaculture and industrial fishing (Agricultural Sciences), 4.2.6. Fish breeding, aquaculture and industrial fishing (Biological Sciences)	Since October 13, 2022

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

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

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

The address of the editorial office: 394087 Lomonosova 114b, Voronezh, Russia Tel./fax + 7 (473) 253-92-81

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

ВЕТЕРИНАРНЫЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

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



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

№ 4 (29) • 2024

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

Влияние пропофола и комбинации пропофола и изофлурана на витальные параметры карликовых свиней

*Акимов Д. Ю., Макарова М. Н., Филиппова Н. А., Хан С. О., Шабанов П. Д.,
Ляшенко П. М., Ляшенко Е. А.* 8

Влияние препарата неролакт на молочную железу коров при интрацистернальном введении

Галкин А. В. 23

Специфическое действие сурфагона на инфантильных животных

Холиков А. А., Юнусов Х. Б., Фарманов Н. О. 30

Исследование цитогенетической стабильности костного мозга мышей в условиях применения гидрофильной криофракции селезенки крупного рогатого скота

Шабанов Д. И. 36

КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

Исследование структуры ассортимента препаратов, применяемых для лечения заболеваний опорно-двигательного аппарата у собак

*Самтиев А. М., Семенов М. П., Онбыш Т. Е.,
Железнякова К. А.* 44

Влияние IFN α на показатели неспецифической резистенности телят-гипотрофиков с коморбидной патологией

Саврасов Д. А. 58

Некоторые аспекты фармакорегуляции репродуктивных органов у животных

Фармонов Н. О., Кулдошев Г. М., Омонов Ш. К., Рахмадуллаев Х. Р. угли. 70

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

Фармакокинетический профиль лекарственных препаратов и его значение для снижения темпов распространения антибиотикорезистентности

Комаров А. А., Гончарова Е. Н. 76

Сравнительная эффективность внутриматочных средств в комплексной терапии послеродового метрита у молочных коров

Скорилов В. Н. 82

Влияние пробиотика «Целлобактерин®-Т» на уровень экспрессии провоспалительного цитокина интерлейкина-6 и иммунного статуса карпа обыкновенного при аэромонозе

Стрельников Н. А., Михайлов Е. В., Сыромятников М. Ю., Бакулина Е. Д., Семенова Е. В., Мирошниченко П. В., Басанкина В. М. 91

Влияние применения композиции экстрактивных веществ древесной зелени пихты на динамику гематологических показателей, интегральных лейкоцитарных индексов и продуктивность животных

Опарина О. Ю., Красноперов А. С., Малков С. В., Белоусов А. И., Черницкий А. Е. . . 103

**PATHOPHYSIOLOGY, PATHOBIOCHEMISTRY
AND EXPERIMENTAL THERAPY**

Влияние комплексной терапии на показатели эндогенной интоксикации и антиоксидантной защиты у свиноматок с воспалительными процессами в репродуктивных органах

Болдырев И. А., Бригадиров Ю. Н., Ческидова Л. В., Близнецова Г. Н. 119

Иммуно-биохимический статус крови клинически здоровых и больных маститом лактирующих коров при применении рекомбинантного интерферона-лямбда

Зимников В. И., Ермакова Т. И. 128

Условия публикации и правила оформления статей 142

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. 4 (29) • 2024

EXPERIMENTAL PHARMACOLOGY

Effect of propofol and combination of propofol and isoflurane on vital parameters of mini pigs

Akimov D. Y., Makarova M. N., Filippova N. A., Khan S. O.,

Shabanov P. D., Lyashenko P. M., Lyashenko E. A. 16

Effect of the drug nerolakt on the mammary gland of cows in case of intracisternal administration

Galkin A. V. 27

Specific effect of surfagon on infantile animals

Kholikov A. A., Yunusov K. B.,

Farmanov N. O. 33

Study of cytogenetic stability of mouse bone marrow using hydrophilic cryofraction of bovine spleen

Shabanov D. I. 40

CLINICAL PHARMACOLOGY

Study of the assortment structure of the drugs used for the treatment of the musculoskeletal system diseases in dogs

Sampiev A. M., Semenenko M. P., Onbysh T. E.,

Zheleznyakova K. A. 51

Effect of IFN α on indicators of non-specific resistance in hypotrophic calves with comorbid pathology

Savrasov D. A. 64

Some aspects of pharmacoregulation of genital organs in animals

Farmonov N. O., Kuldoshev G. M., Omonov S. K., Rakhmadullaev K. R. ugli. . . . 73

AGENTS FOR ZOOHYGIENE, DISINFECTION, DISINSECTIZATION AND DISINFESTATION

Pharmacokinetic profile of drugs and its importance for reducing the spread of antibiotic resistance

Komarov A. A., Goncharova E. N. 79

Comparative efficacy of intrauterine remedies in complex therapy of postpartum metritis in dairy cows

Skorikov V. N. 87

Effect of the probiotic “Cellobacterin[®]-t” on the expression level of the proinflammatory cytokine interleukin-6 and the immune status of common carp in case of aeromonosis

*Strelnikov N. A., Mikhaylov E. V., Syromyatnikov M. Y., Bakulina E. D.,
Semenova E. V., Miroshnichenko P. V., Basankina V. M. 97*

PATHOPHYSIOLOGY, PATHOBIOCHEMISTRY AND EXPERIMENTAL THERAPY

Effect of application of fir tree foliage extractives composition on the dynamics of hematological indicators, integral leukocyte indices and animal productivity

Oparina O. Y., Krasnoperov A. S., Malkov S. V., Belousov A. I., Chernitskiy A. E. 111

Effect of complex therapy on indicators of endogenous intoxication and antioxidant protection in sows with inflammatory processes in the reproductive organs

Boldyrev I. A., Brigadirov Y. N., Cheskidova L. V., Bliznetsova G. N. 124

Immunobiochemical blood status in clinically healthy cows and lactating cows with mastitis using recombinant interferon lambda

Zimnikov V. I., Ermakova T. I. 135

Publishing terms and article formatting requirements 142

ВЛИЯНИЕ ПРОПОФОЛА И КОМБИНАЦИИ ПРОПОФОЛА И ИЗОФЛУРАНА НА ВИТАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ КАРЛИКОВЫХ СВИНЕЙ

Дмитрий Юрьевич Акимов^{*,**✉}, Марина Николаевна Макарова^{*},
Наталья Александровна Филиппова^{*}, Станислав Олегович Хан^{*},
Петр Дмитриевич Шабанов^{**}, Павел Михайлович Ляшенко^{***},
Елена Анатольевна Ляшенко^{***}

^{*}НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», Ленинградская обл., Всеволожский р-н, п. Кузьмоловский, Россия

^{**}Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

^{***}Ульяновский ГАУ, Ульяновск, Россия, akimov.du@doclinika.ru✉

Аннотация. Для проведения исследований на карликовых свиньях часто приходится прибегать к анестезии животных. При этом препаратами выбора часто становятся пропофол и изофлуран, как в комбинации, так и отдельно, отличающиеся привлекая своей быстрой реверсией анестезии. Однако в инструкции по применению пропофола и изофлурана нет данных о дозировании для карликовых свиней. Кроме того, в имеющихся литературных источниках отсутствуют сведения по влиянию анестетиков на физиологические параметры животных, тогда как в доклинических исследованиях важно уметь дифференцировать влияние препаратов для наркотизации от действия кандидата в лекарственные средства. Целью нашего исследования было изучение влияния пропофола и его комбинации с изофлураном на основные физиологические показатели у карликовых свиней. В эксперименте участвовали клинически здоровые 10 самцов и 10 самок карликовых свиней в возрасте от 1 до 3 лет. Был применен перекрестный дизайн с периодом отмывки не менее 30 дней. Первоначально 10 самцам и 10 самкам медленно внутривенно вводили пропофол в дозе от 6 до 8 мг/кг. Не ранее, чем через 30 дней, переходили ко второму этапу эксперимента — вводили пропофол в дозе 3 мг/кг и далее использовали масочную подачу изофлурана со скоростью потока 2 л/мин и концентрацией 1,5 % в воздушной смеси с 40—93 % кислорода. В первом случае измерение физиологических параметров проводилось на 5 минуте после введения пропофола, во втором случае — после 15-й минуты анестезии. На основании проведенного исследования мы можем заключить, что пропофол и пропофол в комбинации с изофлураном могут быть широко применены для наркотизации карликовых свиней.

Ключевые слова: лабораторные животные, свиньи, карликовые свиньи, наркоз, анестезия, анальгезия, пропофол, изофлуран, физиология, кровь

Свиньи уже много лет являются широко признанными экспериментальными животными в биомедицинских исследованиях, при этом за последние несколько лет большое значение среди них приобрели карликовые свиньи. Преимущества карликовой свиньи по сравнению с сельскохозяйственной свиньей заключаются в ее меньших размерах, более медленном росте во время исследований, простоте обращения. Карликовые свиньи все чаще используются в экспериментах благодаря

морфологическому и физиологическому сходству органов свиньи и человека, особенно кожи, и сердечно-сосудистой системы [1].

Для проведения экспериментальных процедур животных часто приходится обездвиживать, наиболее эффективно это можно сделать с помощью наркотизации. Согласно данным Mirra A, et al. (2023), несмотря на большое количество свиней, участвовавших в исследованиях, из 13 792 найденных статей лишь в 105 работах животным был предо-

ставлен адекватный уровень анестезии. Результаты ученых подчеркивают отсутствие научно-обоснованных и надежных показателей, позволяющих гарантировать адекватную глубину анестезии, как у свиней, так и у карликовых свиней [2].

Отечественный рынок ветеринарных препаратов ограничен и сводится к использованию комбинации производных ксилазина и тилетамина + золазепам. Пропофол и изофлуран привлекают внимание как в комбинации, так и отдельно, за счет своего ультракороткого действия и быстрой реверсии анестезии. В зарубежной литературе встречаются сообщения, что анестезию свиней проводят с помощью пропофола [3]. В литературе также представлены отдельные работы, где описано использование пропофола и изофлурана в биомедицинских исследованиях на модели карликовых свиней [4, 5].

Для обеспечения животного анестезией соответствующей степени тяжести процедуры следует понимать механизм действия каждого из препаратов.

Пропофол оказывает свое действие посредством потенцирования, ингибирующего нейротрансмиттера γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) [10]. Пропофол долгое время считался неанальгетиком. Однако накопленные данные показывают, что пропофол обладает модулирующим действием на обработку и восприятие боли. В исследовании Bandschapp O, et al (2010), пропофол продемонстрировал кратковременные анальгетические свойства, но только во время введения. Позднее Fassoulaki A. (2011), доказал, что механизмы анальгезии включают вызванное пропофолом высвобождение β -эндорфинов и потенциальную активацию каннабиноидных рецепторов. Кроме того, пропофол ингибирует комплекс рецепторов NMDA, который играет важную роль в развитии центральной сенситизации. Вероятным механизмом действия изофлурана является ингибирование ионных каналов, управляемых нейротрансмиттерами, таких как рецепторы ГАМК, глицина и NMDA в центральной нервной системе. Ингибирование этих рецепторов помогает вызывать амнезию и седацию, необходимые для адекватных хирургических условий [11—13].

Однако в инструкции по применению пропофола и изофлурана нет данных о дозировании для карликовых свиней. Кроме того, в имеющиеся литературные данные отсутствуют сведения по влиянию анестетиков на физиологические параметры животных, тогда как в доклинических исследова-

ниях важно уметь дифференцировать влияние препаратов для наркотизации от действия кандидата в лекарственные средства.

Ввиду обозначенных факторов целью настоящего исследования стало изучение влияния пропофола и его комбинации с изофлураном на основные физиологические показатели у карликовых свиней.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследование было одобрено локальной комиссией по биоэтике. В экспериментальной работе было задействовано 10 самцов и 10 самок карликовых свиней в возрасте от 1 до 3-х лет. Применялся перекрестный дизайн с периодом отмычки не менее 30 дней. Средняя масса тела ($M \pm m$) в группе самцов — $26,2 \pm 4,1$ кг, самок — $20,4 \pm 5,7$ кг. Животные содержались в стандартных условиях в соответствии с рекомендациями Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14 ноября 2023 г. № 33 «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований», а также директивой Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» [6—8]. Животные клинически здоровы, свободные от сальмонеллеза, шигеллеза, эшерихиоза, кампилобактериоза, иерсиниоза, включая *Yersinia pestis*, *Y. pseudotuberculosis*; лептоспироза, листериоза, туберкулеза, вакцинированы от рожи свиней, классической чумы свиней, болезни Ауески и обработаны от паразитов [9].

Анестезия. Первоначально 10 самцам и 10 самкам медленно внутривенно вводили пропофол в дозе от 6 до 8 мг/кг. Не ранее, чем через 30 дней, переходили ко второму этапу эксперимента — вводили пропофол в дозе 3 мг/кг, и далее использовали масочную подачу изофлурана со скоростью потока 2 л/мин и концентрацией 1,5 % в воздушной смеси с 40—93 % кислорода. В первом случае измерение физиологических параметров проводилось на 5 минуте после введения пропофола, во втором случае — после 15-й минуты анестезии.

Взятие крови осуществляли из подкожной вены уха до введения тестируемых объектов на точках 0 и через 24 часа после анестезии.

Оценивали скорость потери рефлексов, таких как пальцебральный, pedalный, роговичный, реакции зрачка на свет, спонтанные движения, ригидность нижнечелюстных мышц. При этом уста-

навливали длительность анестезии для пропофола и время восстановления всех рефлексов.

Для оценки влияния анестезии на физиологические параметры температуру тела измеряли электронным термометром, сатурацию (SpO₂), артериальное давление (АД) — с использованием монитора пациента Star 8000 D («Comen»), ЭКГ и ЧСС — с помощью электрокардиографа «Поли-Спектр-8/Е» (ООО «Нейрософт»), частоту дыхательных движений (ЧДД) оценивали визуально.

Проводили исследования общего анализа крови на гематологическом анализаторе «Mythic 18 Vet» (Orphee, Швейцария), биохимического профиля крови — на анализаторе Random Access A-25 (BioSystems, Испания).

Полученные данные обрабатывали с помощью программного обеспечения GraphPad Prism. Данные были оценены на соответствие нормальному закону распределения (критерий Шапиро — Уилка) и условиям однородности групповых дисперсий (тест Брауна — Форсайта).

Результаты представлены в виде среднего и стандартного отклонения (M ± SD). Для оценки влияния степени анестезии на физиологические показатели использовали однофакторный дисперсионный анализ, при отсутствии однородности дисперсий использовали статистику Брауна — Форсайта, в таком случае со скорректированными значениями степеней свободы. При выявлении статистически значимого влияния фактора степени анестезии было проведено апостериорное сравнение групп критерием Тьюкки.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Полученные данные об основных физиологических параметрах, необходимых для оценки экспериментов на карликовых свиньях при использовании пропофола и пропофол-изофлуранового наркоза, представлены в таблицах 1—3.

Из таблицы 1 следует, что после внутривенного введения пропофола в дозе 6 мг/кг животные засыпали уже через 15—40 секунд, тогда как при введении 3 мг/кг, достаточный уровень анестезии для масочной подачи изофлурана наступал только на 60—80 секунде. При использовании пропофола у животных сохранялся слабовыраженный пальпебральный рефлекс, тогда как на 2-й минуте подачи изофлурана отсутствовали все рефлексы. Продолжительность анестезии, вызванной пропофолом, составляла у самцов от 22 до 27 минут, тогда как у самок — 15—20 минут. После проявления рефлексов полная реверсия в случае с использованием пропофола наступала через 3—5 минут, тогда как при комбинации пропофол + изофлуран — через 10 минут. Полученные данные говорят о том, что при дополнении пропофола изофлураном достигается более глубокая стадия анестезии.

Исходя из данных нашего исследования (табл. 1), пропофол и пропофол-изофлурановый наркоз никак не влияет на температуру тела карликовых свиней. В своем исследовании Bureš J. et al (2023) получили схожие данные, где данный показатель находился в пределах от 37 до 40 °С [14], что говорит о возможности поддерживать нормальную терморегуляцию у животных.

Таблица 1

Физиологические параметры карликовых свиней под анестезией

Показатель	Самцы		Самки	
	Пропофол	Пропофол и Изофлуран	Пропофол	Пропофол и Изофлуран
1	2	3	4	5
Скорость наступления анестезии, сек	15—30	60—80	30—40	60—80
Продолжительность анестезии, мин.	22—27	Все время подачи изофлурана	15—20	Все время подачи изофлурана
Длительность реверсии, мин	3—5	10	3—5	10
Температура тела, °С	38,2 ± 0,4	37,9 ± 0,8	38,5 ± 0,3	38,1 ± 0,6
Сатурация (SpO ₂), %	98 ± 0,6	100 ± 0***	98 ± 0,4	100 ± 0,2*
ЧДД, вдохов/мин	15 ± 1,5	10 ± 0,7*	16 ± 1,7	11 ± 0,8*

Окончание табл. 1

1		2	3	4	5
АД, мм рт. ст.	систолическое	116 ± 4,3	106 ± 3,7	104 ± 4	95 ± 3
	диастолическое	60 ± 5	49 ± 2,5	50 ± 2,2	47 ± 1,7
ЧСС, ударов/мин		83 ± 7,4	76 ± 7,4	84 ± 4,8	87 ± 5,4 [#]
ЭКГ, мс	R-R ср.	704 ± 35	874 ± 31 ^{**}	735 ± 41	687 ± 33 ^{##}
	P, мс	58 ± 2	52 ± 3,1	53 ± 5	59 ± 4,5
	P-Q, ср	131 ± 5,2	130 ± 3,8	125 ± 3,8	114 ± 9,6
	QRS, мс	73 ± 1,8	72 ± 2,7	80 ± 4,6	71,8 ± 1,6
	Q-Tс, мс	337 ± 10	365 ± 12	336 ± 24	383 ± 29

* при наличии статистической значимости между группами животных одного пола, при этом

* $p < 0,05$

** $p < 0,01$

*** $p < 0,001$

[#] при наличии статистической значимости внутри группы между самцами и самками, при этом

[#] $p < 0,05$

^{##} $p < 0,01$

Общеизвестно, что пропофол угнетает дыхательную систему и вызывает нейроапоптоз, основные механизмы требуют выяснения и могут иметь энергетическую основу [15]. Из таблицы 1 следует, что уровень сатурации в группе с комбинацией пропофола и изофлурана был статистически выше, нежели в группе с применением пропофола, при том, что ЧДД в группе с использованием пропофол-изофлуранового наркоза снижалась на 30 %. Полученные данные говорят о том, что за счет увеличения сатурации у животных на пропофол-изофлурановой анестезии снижется потребность в кратности воздухообмена, выражающейся в снижении ЧДД.

В исследовании наблюдали некоторое снижение АД при использовании пропофол-изофлуранового наркоза по сравнению с пропофолом, однако данные статистически не отличались. Подобная тенденция отмечается и в работах Kajimoto M., et al (2014), где на фоне пропофола систолическое АД регистрировали на уровне 106 ± 4 мм рт. ст., при использовании изофлурана — 99 ± 5 мм рт. ст., а среднее значение АД при введении пропофола — 84 ± 2 мм рт. ст., при использовании пропофол-изофлурановой анестезии — 80 ± 2 мм рт. ст. [15]. Обе комбинации не оказывали значимого влияния на ЧСС, данные, полученные по результа-

там измерения ЧСС, согласуются с литературными данными [16]. При оценке ЭКГ между группами не установлено существенных различий, за исключением удлинения комплекса R-R ср. в группе с использованием пропофола и изофлурана. В литературных источниках нам не удалось найти сведений о влиянии данных препаратов на ЭКГ карликовых свиней. Полученные нами данные свидетельствуют об отсутствии выраженных кардиодепрессивных свойств у исследуемых препаратов при выбранных режимах дозирования и дополняют данные о ЭКГ карликовых свиней.

Использование пропофола и пропофола + изофлурана позволяет обеспечивать контролируемую анестезию для проведения процедур легкой и умеренной степени тяжести без клинически значимых изменений в физиологических параметрах карликовых свиней.

Из таблицы 2 следует, что анестезия не оказывает клинически значимого влияния на гематологические показатели крови кроме статистически значимого увеличения ширины распределения тромбоцитов по объему по сравнению с нулевой точкой.

Из таблицы 3 видно, что у самцов на пропофол-изофлурановом наркозе наблюдается статистически значимое увеличение креатинина по сравнению с нулевой точкой.

Таблица 2

Гематологический профиль крови карликовых свиней в эксперименте

Показатель	До введения ТО (0 точка)		Самцы		Самки	
	Самцы	Самки	Пропофол	Пропофол и Изофлуран	Пропофол	Пропофол и Изофлуран
Лейкоциты, $\times 10^9/L$	5,5 ± 0,4	5,6 ± 0,4	6,6 ± 0,4	8,7 ± 0,8	7,9 ± 0,5	7,8 ± 0,56
Лимфоциты, %	49,3 ± 2,5	58,3 ± 2,9	59,2 ± 2,1	56,2 ± 2,3	66,3 ± 2,6	63,1 ± 1,9
Моноциты, %	2,1 ± 0,1	2,2 ± 0,1	2,4 ± 0,29	2,3 ± 0,14	2,1 ± 0,16	2,4 ± 0,16
Гранулоциты, %	49,4 ± 2,3	40,4 ± 3	38,9 ± 1,9	41,7 ± 2,3	31,6 ± 2,6	34,3 ± 1,8
Эритроциты, $\times 10^{12}/L$	8 ± 0,1	7,2 ± 0,1	8,1 ± 0,2	8,1 ± 0,2	8 ± 0,4	7,7 ± 0,2
Гемоглобин, g/L	159,2 ± 6	157,5 ± 3	168,7 ± 4	169,3 ± 3	169,3 ± 7	164,4 ± 4
Гематокрит, %	0,4 ± 0,01	0,4 ± 0,01	0,4 ± 0,01	0,4 ± 0,01	0,4 ± 0,01	0,4 ± 0,01
Тромбоциты, $\times 10^9/L$	180,1 ± 21,1	188,3 ± 17,3	169,4 ± 13,3	212,4 ± 22,1	157,7 ± 27,4	158,8 ± 10,6
Средний объем эритроцитов, fL	49,7 ± 0,4	51,6 ± 0,5	46,2 ± 0,6	49,6 ± 0,7	48,3 ± 0,8	51 ± 0,8
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, pg	20,2 ± 0,8	21,7 ± 0,2	21,2 ± 0,3	21,3 ± 0,3	20,6 ± 0,4	20,8 ± 0,3
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, %	397,1 ± 15	423,4 ± 1,71	449,8 ± 2,5	423,9 ± 1,62	441,8 ± 1,58	416,9 ± 2,93
Ширина распределения эритроцитов по объему, fL	19,7 ± 0,3	19,9 ± 0,2	19,6 ± 0,4	18,4 ± 0,3	19,3 ± 0,3	18,1 ± 0,4
Средний объем тромбоцита, fL	8,2 ± 0,1	8,3 ± 0,2	7,6 ± 0,2	7,6 ± 0,2	7,7 ± 0,3	7,7 ± 0,2
Тромбокрит, %	0,15 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,12 ± 0,02	0,12 ± 0,01
Ширина распределения тромбоцитов по объему, %	40,6 ± 1,2	38,2 ± 1,8	56,8 ± 1,7***	47,4 ± 2,8*	56,4 ± 2,6***	48,2 ± 2,3*

* при наличии статистической значимости между группами животных одного пола, при этом

* $p < 0,05$

*** $p < 0,001$

В группе с использованием пропофол-изофлурановой анестезии уровень креатинина и мочевины у самок был статистически значимо ниже, чем у самцов данной группы. В группе с использованием пропофола статистически значимо снижался уровень щелочной фосфатазы, чего мы не наблюдали в группах с использованием пропофол-изофлу-

ранового наркоза. В литературе не описаны сведения о снижении щелочной фосфатазы на фоне введения пропофола у свиней. Напротив, согласно сообщению, Mazaheri-Khameneh R. et al (2012), у кроликов концентрация щелочной фосфатазы значительно увеличивается под действием пропофола. Подобные нашим изменения в исследовании на лю-

дях отмечал Oladimeji M. A. et al (2022), где пропофол вызвал значительное снижение щелочной фосфатазы через 24 часа после операции. Chen N. et al (2023) сообщали, что у пациентов с раком предстательной железы лечение пропофолом снижало активность щелочной фосфатазы [17—19].

Из клинической практики известно, что пропофол вызывает снижение сывороточного цинка в послеоперационный период, а также снижение щелочной фосфатазы, что может быть взаимосвязано, возможно, схожие изменения проходят и у карликовых свиней [20].

Таблица 3

Биохимический профиль крови карликовых свиней в эксперименте

Показатель	До введения ТО (0 точка)		Самцы		Самки	
	Самцы	Самки	Пропофол	Пропофол и Изофлуран	Пропофол	Пропофол и Изофлуран
Альбумины, г/л	51,5 ± 0,7	47,2 ± 1,4	49,9 ± 1,1	56,7 ± 1,6	51,2 ± 2,2	51,1 ± 1,9
Общий белок, г/л	81,1 ± 1,1	79,6 ± 1,6	78,2 ± 1,2	89,8 ± 1,9**	79,4 ± 2,3	80,4 ± 2,1
Глобулины, г/л	30,4 ± 1	33,5 ± 1,3	28,6 ± 1,1	34,1 ± 1,9	29,2 ± 3,4	30,4 ± 2,3
Глюкоза, ммоль/л	4,2 ± 0,12	4,4 ± 0,18	5,1 ± 0,4	5,4 ± 0,25	5 ± 0,38	5,2 ± 0,26
Щелочная фосфатаза, Ед/л	262,1 ± 20,7	318,7 ± 34,6	100,3 ± 9,7***	190,8 ± 22, 8	186,7 ± 32,1***	308,2 ± 57
АЛТ, Ед/л	38,8 ± 2,3	39,1 ± 1	49,3 ± 3,3	49,6 ± 3,7	53,7 ± 4	43, 7 ± 1,1
АСТ, Ед/л	41,9 ± 5,8	39,4 ± 5,9	47,3 ± 6,6	42,8 ± 7,6	67,9 ± 6,2	43,2 ± 9,3
Билирубин, мкмоль/л	2,6 ± 0,4	2,2 ± 0,2	5,4 ± 0,5	3,2 ± 0,2	5 ± 0,3	3,6 ± 0,3
Креатинин, мкмоль/л	110,7 ± 5,5	115,4 ± 4,2	123,6 ± 8	135,7 ± 3,7**	134,7 ± 4,6	116,7 ± 4,1#
Мочевина, ммоль/л	4,2 ± 0,1	3 ± 0,2	4 ± 0,4	5,5 ± 0,7	3,8 ± 0,4	3,2 ± 0,3#

* при наличии статистической значимости между группами животных одного пола, при этом

* $p < 0,05$

** $p < 0,01$

*** $p < 0,001$

при наличии статистической значимости внутри группы между самцами и самками, при этом

$p < 0,05$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенного исследования мы можем заключить, что пропофол и пропофол в комбинации с изофлураном могут быть широко применены для наркотизации карликовых свиней, при этом монопрепарат следует использовать для манипуляций, характеризующихся легкой степенью тяжести, а в комбинации — умеренной.

Анализ данных исследования позволяют сделать следующие выводы:

— совместное использование пропофола и изофлурана позволяет снизить дозы первого, что снижает риски побочных эффектов, а также в ком-

бинации с изофлураном пропофол приводит к более выраженному анестезирующему эффекту.

— оба протокола анестезиологического обеспечения позволяют обеспечить хорошо контролируемую терморегуляцию животного.

— со стороны дыхательной системы не отмечается клинически значимых отклонений при использовании как пропофола, так и комбинации его с изофлураном. Снижение дозы пропофола в комбинации с изофлураном минимизирует риск нейроапноэза, характерный для первого препарата.

— оба протокола анестезии не приводили к значимым отклонениям в работе сердечно-сосу-

дистой системы, что подтверждается результатами исследований артериального давления, частоты сердечных сокращений и электрокардиографии.

— при использовании обеих схем анестезии отмечалось статистически значимое увеличение ширины распределения тромбоцитов по объему. Пропофол статистически значимо снижает уровень щелочной фосфатазы. У самцов пропофол в комбинации с изофлураном приводит к снижению скорости клубочковой фильтрации, что характеризуется увеличением уровня креатинина.

Полученные данные могут быть применены в сфере экспериментальной фармакологии, связанной с использованием лабораторных карликовых свиней, и помогут дифференцировать изменения, вызванные исследуемым лекарственным средством от влияния анестезии.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Zeltner A., Pedersen H. D. Pigs and minipigs //The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals. 2024. V. 32. P. 570—595. DOI:10.1002/9781119555278.ch32
2. Mirra A. et al. How is depth of anaesthesia assessed in experimental pigs? A scoping review // Plos one. 2023. V. 18. № 3. P. e0283511. DOI: 10.1371/journal.pone.0283511
3. Laien X. U. E. Anesthetic Effects of Zoletil and Xylazine on Bama Mini-pigs //Laboratory Animal and Comparative Medicine. 2022. V. 42. № 1. P. 26—30. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2021.103
4. Sørensen NB. Subretinal surgery: functional and histological consequences of entry into the subretinal space. Acta Ophthalmol. 2019 Nov;97 Suppl A114:1—23. DOI: 10.1111/aos.14249. PMID: 31709751
5. Landau A. M. et al. Type of Anaesthetic Influences [11 C]MDL100, 907 Binding to 5HT 2A Receptors in Porcine Brain //Molecular Imaging and Biology. 2020. V. 22. P. 797—804. DOI: 10.1007/s11307-020-01476-x. PMID: 31993926
6. Бондарева Е. Д. и др. Рекомендуются способы поения лабораторных животных. Технические особенности. Обеспечение благополучия и здоровья лабораторных животных //Лабораторные животные для научных исследований. 2022. № 2. С. 71—78. — DOI: 10.29296/2618723X-2022-02-08.
7. J. Guillén и др. Зоотехнические аспекты содержания лабораторных животных //Консультант GLP-PLAN-ET. Мнение фармацевтической отрасли. 2021. С. 87—97. DOI: 10.29296/978-5-7724-0177-4-s4-02.
8. Акимова М. А. и др. Нормативы по обслуживанию лабораторных животных в питомниках зоолаборантов // Лабораторные животные для научных исследований. 2024. № 1. С. 42—51. DOI: 10.57034/2618723X-2024-01-05
9. Акимов Д. Ю. и др. Превентивные лечебные мероприятия в доклинических исследованиях (противопаразитарная обработка) // Лабораторные животные для научных исследований. 2020. № 4. С. 43—55. DOI: 10.29296/2618723X-2020-04-05.
10. Sahinovic M. M., Struys M. M. R. F., Absalom A. R. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of propofol // Clinical pharmacokinetics. 2018. V. 57. № 12. P. 1539—1558. DOI: 10.1007/s40262-018-0672-3.
11. Bandschapp O. et al. Analgesic and antihyperalgesic properties of propofol in a human pain model //The Journal of the American Society of Anesthesiologists. 2010. T. 113. № 2. С. 421—428. DOI: 10.1097/ALN.0b013e3181e33ac8
12. Fassoulaki A. Is propofol an analgesic //European Journal of Anaesthesiology|EJA. 2011. V. 28. № 7. P. 481—482. DOI: 10.1016/j.annemergmed.2007.09.034
13. Van Allen NR, Krafft PR, Leitzke AS, Applegate RL 2nd, Tang J, Zhang JH. The role of Volatile Anesthetics in Cardioprotection: a systematic review. Med Gas Res. 2012. № 2(1). P. 22. DOI: 10.1186/2045-9912-2-22.
14. Bureš J. et al. Wireless monitoring of gastrointestinal transit time, intra-luminal pH, pressure and temperature in experimental pigs: a pilot study //ACTA MEDICA. 2023. V. 66. № 1. P. 11—18. DOI: 10.14712/18059694.2023.9
15. Kajimoto M. et al. Propofol compared with isoflurane inhibits mitochondrial metabolism in immature swine cerebral cortex //Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. 2014. V. 34. № 3. P. 514—521. DOI: 10.1038/jcbfm.2013.229
16. Carlsen M. F. et al. Implantation of telemetric blood pressure transmitters in Göttingen Minipigs: Validation of 24-h systemic blood pressure and heart rate monitoring and influence of anaesthesia //Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. 2022. V. 115. P. 107—168. DOI: 10.1016/j.vascn.2022.107168
17. Mazaheri-Khameneh R. et al. Evaluation of clinical and paraclinical effects of intraosseous vs intravenous administration of propofol on general anesthesia in rabbits // Veterinary Research Forum. — Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran, 2012. V. 3. № 2. P. 103.
18. Oladimeji M. A. et al. A comparison of the effect of isoflurane and propofol on liver enzymes //Journal of West African College of Surgeons. 2022. V. 12. № 2. P. 28—33. DOI: 10.4103/jwas.jwas_69_22.
19. Chen N. et al. Propofol mediates bone metastasis by regulating PC-derived exosomal miR-142—3p //Bulletin du Cancer. 2023. V. 110. № 3. P. 265—274. DOI: 10.1016/j.bulcan.2023.01.008
20. Ray C. S. et al. Low alkaline phosphatase (ALP) in adult population an indicator of zinc (Zn) and magnesium (Mg) deficiency //Current Research in Nutrition and Food Science Journal. 2017. T. 5. № 3. С. 347—352. DOI: 10.12944/CRNFSJ.5.3.20

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Д. Ю. Акимов — главный ветеринарный врач; соискатель;

М. Н. Макарова — доктор медицинских наук, директор;

Н. А. Филиппова — ветеринарный врач участка лабораторные карликовые свиньи;

С. О. Хан — ветеринарный фельдшер участка лабораторные карликовые свиньи;

П. Д. Шабанов — доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом нейрофармакологии
им. С. В. Аничкова;

М. М. Ляшенко — кандидат ветеринарных наук, доцент;

Е. А. Ляшенко — кандидат биологических наук, доцент.

Статья поступила в редакцию 07.10.2024.

EFFECT OF PROPOFOL AND COMBINATION OF PROPOFOL AND ISOFLURANE ON VITAL PARAMETERS OF MINI PIGS

Dmitriy Yuryevich Akimov^{*,**✉}, Marina Nikolaevna Makarova^{*},
Natalya Aleksandrovna Filippova^{*}, Stanislav Olegovich Khan^{*}, Petr Dmitrievich Shabanov^{**},
Pavel Mikhaylovich Lyashenko^{***}, Elena Anatolyevna Lyashenko^{***}

**Research and Production Association "HOME OF PHARMACY",
Leningrad region, Vsevolozhsk district, Kuzmolovskiy s., Russia*

***Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia*

****Ulyanovsk State Agrarian University, Ulyanovsk, Russia, akimov.du@doclinika.ru✉*

Abstract. To conduct studies on mini pigs, it is often necessary to resort to anesthesia of animals. In this case, the drugs of choice are often propofol and isoflurane, both in combination and separately, which are distinguished by their attractive rapid reversal of anesthesia. However, the instructions for the use of propofol and isoflurane do not contain the data on dosing for mini pigs. In addition, the available literature does not contain information on the effect of anesthetics on the physiological parameters of animals, while in preclinical studies it is important to be able to differentiate the effect of drugs for anesthesia from the effect of a drug candidate. The objective of our research was to study the effect of propofol and its combination with isoflurane on the main physiological indicators in mini pigs. The experiment involved clinically healthy 10 male and 10 female mini pigs aged from 1 to 3 years. A crossover design with a washout period of at least 30 days was used. Initially, 10 males and 10 females were slowly intravenously administered propofol at a dose of 6 to 8 mg/kg. Not earlier than 30 days later, we moved on to the second stage of the experiment — propofol was administered at a dose of 3 mg/kg and then isoflurane was supplied by mask at a flow rate of 2 L/min and a concentration of 1.5 % in an air mixture with 40—93 % oxygen. In the first case, physiological parameters were measured 5 minutes after propofol administration, in the second case — 15 minutes after anesthesia. Based on the study, we can conclude that propofol and propofol in combination with isoflurane can be widely used for anesthesia of mini pigs.

Keywords: laboratory animals, pigs, mini pigs, narcosis, anesthesia, analgesia, propofol, isoflurane, physiology, blood

Pigs have been widely accepted experimental animals in biomedical research for many years. Moreover, mini pigs have become very important among them in the last few years. The advantages of mini pigs over farm pigs include their smaller size, slower growth during research and ease of keeping. Mini pigs are increasingly used in experiments due to the morphological and physiological similarities between pig and human organs, especially the skin and cardiovascular system [1].

To perform experimental procedures, animals often have to be immobilized, which can be most effectively done by anesthesia. According to Mirra A, et al. (2023), despite the large number of pigs involved in the studies, only 105 papers out of 13,792 articles found provided animals with adequate anesthesia. The sci-

entists' results highlight the lack of scientifically valid and reliable indicators to ensure adequate depth of anesthesia in both pigs and mini pigs [2].

The domestic market of veterinary drugs is limited by the use of a combination of xylazine derivatives and tiletamine + zolazepam. Propofol and isoflurane attract attention both in combination and separately, due to their ultra-short action and rapid reversal of anesthesia. In foreign literature, there are reports that pigs are anesthetized with propofol [3]. The literature also contains some works describing the use of propofol and isoflurane in biomedical research on a mini pig model [4, 5].

To provide an animal with anesthesia of the appropriate severity of the procedure, it is necessary to understand the mechanism of action of each drug.

© Akimov D. Y., Makarova M. N., Filippova N. A., Khan S. O., Shabanov P. D., Lyashenko P. M., Lyashenko E. A., 2024

Propofol exerts its action by potentiating the inhibitory neurotransmitter γ -aminobutyric acid (GABA) [10]. Propofol has long been considered a non-analgesic. However, accumulated data show that propofol has a modulatory effect on pain processing and perception. In a study by Bandschapp O, et al (2010), propofol demonstrated short-term analgesic properties, but only during administration.

Later, Fassoulaki A. (2011) has demonstrated that the mechanisms of analgesia include propofol-induced release of β -endorphins and potential activation of cannabinoid receptors.

In addition, propofol inhibits the NMDA receptor complex that plays an important role in the central sensitization development.

The probable mechanism of isoflurane action is the inhibition of neurotransmitter-gated ion channels such as GABA, glycine and NMDA receptors in the central nervous system. Inhibition of these receptors helps to induce amnesia and sedation, which are necessary for adequate surgical conditions [11—13].

However, the instructions for use of propofol and isoflurane do not contain the data on dosing for mini pigs. In addition, the available literature does not contain information on the effect of anesthetics on the physiological parameters of animals, while in preclinical studies it is important to be able to differentiate the effect of drugs for anesthesia from the effect of a drug candidate.

Considering the above factors, the **objective** of this study was to investigate the effect of propofol and its combination with isoflurane on the main physiological indicators in mini pigs.

MATERIAL AND METHODS

The study was approved by the local bioethics commission. The experimental work involved 10 male and 10 female mini pigs aged from 1 to 3 years. A crossover design with a washout period of at least 30 days was used. The average body weight ($M \pm m$) in the group of males was 26.2 ± 4.1 kg, females — 20.4 ± 5.7 kg.

The animals were kept under standard conditions in accordance with the recommendations of the Board of the Eurasian Economic Commission dtd. November 14, 2023 No. 33 On the Guidelines for Working with Laboratory (Experimental) Animals during Preclinical (Non-Clinical) Studies, as well as the Directive of the European Community (86/609/EEC) and the Declaration of Helsinki, in accordance with the Rules for Conducting Work Using Experimental Animals [6—8]. The animals were clinically healthy,

free from salmonellosis, shigellosis, escherichiosis, campylobacteriosis, yersiniosis, including *Yersinia pestis*, *Y. pseudotuberculosis*; leptospirosis, listeriosis, tuberculosis, vaccinated against swine erysipelas, classical swine fever, Aujeszky's disease and treated against parasites [9].

Anesthesia. Initially, 10 males and 10 females were slowly intravenously injected with propofol at a dose of 6 to 8 mg/kg. No earlier than 30 days later, the second stage of the experiment was carried out — propofol was administered at a dose of 3 mg/kg, and then isoflurane was administered by mask at a flow rate of 2 L/min and a concentration of 1.5 % in an air mixture with 40—93 % oxygen. In the first case, physiological parameters were measured 5 minutes after the administration of propofol, in the second case — after the 15th minute of anesthesia.

Blood was taken from the subcutaneous vein of the ear before the introduction of the test objects at 0 points and 24 hours after anesthesia.

The rate of loss of reflexes, such as palpebral, pedal, corneal, pupillary light reflex reactions, spontaneous movements and rigidity of the mandibular muscles were assessed. The duration of anesthesia for propofol and the time of recovery of all reflexes were established.

To assess the effect of anesthesia on physiological parameters, body temperature was measured with an electronic thermometer, saturation (SpO_2), blood pressure (BP) — using a Star 8000 D patient monitor (Comen), ECG and heart rate (HR) — using a Poli-Spectrum-8/E electrocardiograph (Neurosoft LLC), and respiratory rate (RR) was assessed visually.

A complete blood count was performed on a Mythic 18 Vet hematology analyzer (Orphee, Switzerland), and a biochemical blood profile was performed on a Rendom Access A-25 analyzer (BioSystems, Spain).

The obtained data were processed using GraphPad Prism software. The data were assessed for compliance with the normal distribution law (Shapiro — Wilk test) and conditions for homogeneity of group variances (Brown — Forsythe test).

The results are presented as the mean and standard deviation ($M \pm SD$). To assess the effect of the anesthesia degree on physiological indicators, a one-way analysis of variance was used; in the absence of homogeneity of variances, Brown — Forsythe statistics was used, in this case with adjusted values of the degrees of freedom/variance. If a statistically significant effect of the degree of anesthesia factor was detected, a posteriori comparison of the groups was performed using the Tukey test.

STUDY RESULTS

The data obtained on the main physiological parameters necessary for the assessment of experiments on mini pigs using propofol and propofol-isoflurane anesthesia are presented in Tables 1—3.

Table 1 shows that after intravenous administration of propofol at a dose of 6 mg/kg, the animals fell asleep within 15—40 seconds, whereas in case of the administration of 3 mg/kg, a sufficient level of anesthesia for mask administration of isoflurane occurred only in 60—80 seconds. When using propofol, the

animals retained a weak palpebral reflex, whereas on the 2nd minute of isoflurane administration, all reflexes were absent. The duration of anesthesia caused by propofol was from 22 to 27 minutes in males, whereas in females it was 15—20 minutes. After the manifestation of reflexes, complete reversal occurred in 3—5 minutes with the use of propofol, whereas in case of a combination of propofol and isoflurane — in 10 minutes. The data obtained indicate that when propofol is supplemented with isoflurane, a deeper stage of anesthesia is achieved.

Table 1

Physiological parameters of mini pigs under anesthesia

Indicator	Males		Females		
	Propofol	Propofol and Isoflurane	Propofol	Propofol and Isoflurane	
Speed of anesthesia onset, sec	15—30	60—80	30—40	60—80	
Duration of anesthesia, min.	22—27	All the time isoflurane is administered	15—20	All the time isoflurane is administered	
Reversion duration, min	3—5	10	3—5	10	
Body temperature, °C	38.2 ± 0.4	37.9 ± 0.8	38.5 ± 0.3	38.1 ± 0.6	
Saturation (SpO ₂), %	98 ± 0.6	100 ± 0***	98 ± 0,4	100 ± 0.2*	
Respiratory rate (RR), breaths/min	15 ± 1.5	10 ± 0.7*	16 ± 1.7	11 ± 0.8*	
BP, mmHg	systolic	116 ± 4.3	106 ± 3.7	104 ± 4	95 ± 3
	diastolic	60 ± 5	49 ± 2.5	50 ± 2.2	47 ± 1.7
Heart rate (HR), bpm	83 ± 7.4	76 ± 7.4	84 ± 4.8	87 ± 5.4#	
ECG, ms	R-R av.	704 ± 35	874 ± 31**	735 ± 41	687 ± 33##
	P, ms	58 ± 2	52 ± 3.1	53 ± 5	59 ± 4.5
	P-Q, av.	131 ± 5.2	130 ± 3.8	125 ± 3.8	114 ± 9.6
	QRS, ms	73 ± 1.8	72 ± 2.7	80 ± 4.6	71.8 ± 1.6
	Q-Tc, ms	337 ± 10	365 ± 12	336 ± 24	383 ± 29

* if there is a statistical significance between groups of animals of the same gender, while

* $p < 0.05$

** $p < 0.01$

*** $p < 0.001$

if there is a statistical significance within the group between males and females, while

$p < 0.05$

$p < 0.01$

Based on the data of our study (Table 1), propofol and propofol-isoflurane anesthesia do not affect the body temperature of mini pigs. In their study, Bureš J. et al (2023) obtained similar data, where this indicator was in the range from 37 to 40 °C [14], which indicated the possibility of maintaining normal thermoregulation in animals.

It is well known that propofol depresses the respiratory system and causes neuroapoptosis, the underlying mechanisms require clarification and may have an energetic basis [15]. From Table 1 it follows that the saturation level in the propofol-isoflurane group was statistically higher than in the propofol group, while the respiratory rate in the propofol-isoflurane group decreased by 30 %. The data obtained indicate that due to the increase in saturation in the animals under propofol-isoflurane anesthesia, the need for air exchange rate decreases, which is expressed in a respiratory rate decrease.

The study observed some decrease in blood pressure when using propofol-isoflurane anesthesia, compared to propofol, but the data were not statistically different. A similar trend is noted in the works of

Kajimoto M., et al (2014), where against the background of propofol, systolic blood pressure was recorded at the level of 106 ± 4 mmHg, when using isoflurane — 99 ± 5 mmHg, and the average blood pressure value with the administration of propofol was 84 ± 2 mmHg, when using propofol-isoflurane anesthesia — 80 ± 2 mmHg [15]. Both combinations did not have a significant effect on HR, the data obtained from the results of HR measurements were consistent with the literature [16]. When assessing the ECG between the groups, no significant differences were found, with the exception of prolongation of the R-R av. complex in the group using propofol and isoflurane. We were unable to find information on the effect of these drugs on the ECG of mini pigs in the literature. The data we obtained indicate the absence of pronounced cardiodepressant properties in the studied drugs under the selected dosage regimens and complement the data on the ECG of mini pigs.

The use of propofol and propofol + isoflurane allows for controlled anesthesia for mild and moderate procedures without clinically significant changes in the physiological parameters of mini pigs.

Table 2

Hematological profile of mini pigs in the experiment

Indicator	Before the administration of TO (0 point)		Males		Females	
	Males	Females	Propofol	Propofol and Isoflurane	Propofol	Propofol and Isoflurane
1	2	3	4	5	6	7
Leukocytes, $\times 10^9/L$	5.5 ± 0.4	5.6 ± 0.4	6.6 ± 0.4	8.7 ± 0.8	7.9 ± 0.5	7.8 ± 0.56
Lymphocytes, %	49.3 ± 2.5	58.3 ± 2.9	59.2 ± 2.1	56.2 ± 2.3	66.3 ± 2.6	63.1 ± 1.9
Monocytes, %	2.1 ± 0.1	2.2 ± 0.1	2.4 ± 0.29	2.3 ± 0.14	2.1 ± 0.16	2.4 ± 0.16
Granulocytes, %	49.4 ± 2.3	40.4 ± 3	38.9 ± 1.9	41.7 ± 2.3	31.6 ± 2.6	34.3 ± 1.8
Erythrocytes, $\times 10^{12}/L$	8 ± 0.1	7.2 ± 0.1	8.1 ± 0.2	8.1 ± 0.2	8 ± 0.4	7.7 ± 0.2
Hemoglobin, g/L	159.2 ± 6	157.5 ± 3	168.7 ± 4	169.3 ± 3	169.3 ± 7	164.4 ± 4
Hematocrit, %	0.4 ± 0.01	0.4 ± 0.01	0.4 ± 0.01	0.4 ± 0.01	0.4 ± 0.01	0.4 ± 0.01
Thrombocytes, $\times 10^9/L$	180.1 ± 21.1	188.3 ± 17.3	169.4 ± 13.3	212.4 ± 22.1	157.7 ± 27.4	158.8 ± 10.6
Mean corpuscular volume, fL	49.7 ± 0.4	51.6 ± 0.5	46.2 ± 0.6	49.6 ± 0.7	48.3 ± 0.8	51 ± 0.8
Mean corpuscular hemoglobin, pg	20.2 ± 0.8	21.7 ± 0.2	21.2 ± 0.3	21.3 ± 0.3	20.6 ± 0.4	20.8 ± 0.3

Table 2 (the end)

1	2	3	4	5	6	7
Mean corpuscular hemoglobin concentration, %	397.1 ± 15	423.4 ± 1.71	449.8 ± 2.5	423.9 ± 1.62	441.8 ± 1.58	416.9 ± 2.93
Erythrocyte (red cell) distribution width, fL	19.7 ± 0.3	19.9 ± 0.2	19.6 ± 0.4	18.4 ± 0.3	19.3 ± 0.3	18.1 ± 0.4
Mean platelet volume, fL	8.2 ± 0.1	8.3 ± 0.2	7.6 ± 0.2	7.6 ± 0.2	7.7 ± 0.3	7.7 ± 0.2
Thrombocrit, %	0.15 ± 0.02	0.15 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.16 ± 0.01	0.12 ± 0.02	0.12 ± 0.01
Platelet distribution width, %	40.6 ± 1.2	38.2 ± 1.8	56.8 ± 1.7***	47.4 ± 2.8*	56.4 ± 2.6***	48.2 ± 2.3*

* if there is a statistical significance between groups of animals of the same gender, with

* $p < 0.05$

*** $p < 0.001$

It follows from Table 2 that anesthesia does not have a clinically significant effect on blood hematological indicators except for a statistically significant

increase in the width of the platelet distribution by volume, compared to the zero point.

Table 3

Biochemical blood profile of mini pigs in the experiment

Indicator	Before the administration of TO (0 point)		Males		Females	
	Males	Females	Propofol	Propofol and Isoflurane	Propofol	Propofol and Isoflurane
Albumins, g/L	51.5 ± 0.7	47.2 ± 1.4	49.9 ± 1.1	56.7 ± 1.6	51.2 ± 2.2	51.1 ± 1.9
Total protein, g/L	81.1 ± 1.1	79.6 ± 1.6	78.2 ± 1.2	89.8 ± 1.9**	79.4 ± 2.3	80.4 ± 2.1
Globulins, g/L	30.4 ± 1	33.5 ± 1.3	28.6 ± 1.1	34.1 ± 1.9	29.2 ± 3.4	30.4 ± 2.3
Glucose, mmol/L	4.2 ± 0.12	4.4 ± 0.18	5.1 ± 0.4	5.4 ± 0.25	5 ± 0.38	5.2 ± 0.26
Alkaline phosphatase, U/L	262.1 ± 20.7	318.7 ± 34.6	100.3 ± 9.7***	190.8 ± 22.8	186.7 ± 32.1***	308.2 ± 57
ALT, U/L	38.8 ± 2.3	39.1 ± 1	49.3 ± 3.3	49.6 ± 3.7	53.7 ± 4	43.7 ± 1.1
AST, U/L	41.9 ± 5.8	39.4 ± 5.9	47.3 ± 6.6	42.8 ± 7.6	67.9 ± 6.2	43.2 ± 9.3
Bilirubin, μmol/L	2.6 ± 0.4	2.2 ± 0.2	5.4 ± 0.5	3.2 ± 0.2	5 ± 0.3	3.6 ± 0.3
Creatinine, μmol/L	110.7 ± 5.5	115.4 ± 4.2	123.6 ± 8	135.7 ± 3.7**	134.7 ± 4.6	116.7 ± 4.1#
Urea, mmol/L	4.2 ± 0.1	3 ± 0.2	4 ± 0.4	5.5 ± 0.7	3.8 ± 0.4	3.2 ± 0.3#

* if there is a statistical significance between groups of animals of the same gender, while

* $p < 0.05$

** $p < 0.01$

*** $p < 0.001$

if there is a statistical significance within the group between males and females, while

$p < 0.05$

Table 3 shows that males under propofol-isoflurane anesthesia showed a statistically significant increase in creatinine, compared to the zero point. In the propofol-isoflurane anesthesia group, the level of creatinine and urea in females was statistically significantly lower than in the males of this group. In the propofol group, the level of alkaline phosphatase statistically significantly decreased, which we did not observe in the propofol-isoflurane anesthesia groups. There are no reports in the literature on a decrease in alkaline phosphatase against the background of propofol administration to pigs. On the contrary, according to the report by Mazaheri-Khameneh R. et al (2012), the concentration of alkaline phosphatase in rabbits significantly increases under the effect of propofol. The changes similar to ours were noted in a study on humans by Oladimeji M. A. et al (2022), where propofol caused a significant decrease in alkaline phosphatase 24 hours after surgery. Chen N. et al (2023) reported that in patients with prostate cancer, propofol treatment reduced alkaline phosphatase activity [17—19].

It is known from clinical practice that propofol causes a decrease in serum zinc in the postoperative period, as well as a decrease in alkaline phosphatase, which may be interrelated, and similar changes may occur in mini pigs [20].

CONCLUSION

Based on the conducted study, we can conclude that propofol and propofol in combination with isoflurane can be widely used for anesthesia of mini pigs, while the monodrug should be used for manipulations characterized by a mild degree of severity, and in combination — for a moderate one.

The analysis of the study data allows to draw the following conclusions.

— The combined use of propofol and isoflurane allows to reduce the doses of the former, which reduces the risk of side effects, and in combination with isoflurane, propofol leads to a more pronounced anesthetic effect.

— Both protocols of anesthesia care provide well-controlled thermoregulation of the animal.

— No clinically significant deviations in the respiratory system are observed when using either propofol or its combination with isoflurane. Reducing the dose of propofol in combination with isoflurane minimizes the risk of neuroapoptosis, typical of the first drug.

— Both protocols of anesthesia did not lead to significant deviations in the work of the cardiovascular system, which was confirmed by the study results of blood pressure, heart rate and electrocardiography.

— When using both anesthesia schemes, a statistically significant increase in the platelet distribution width was noted. Propofol statistically significantly reduces the level of alkaline phosphatase. In males, propofol in combination with isoflurane leads to a decrease in the glomerular filtration rate, which is characterized by an increase in the level of creatinine.

The obtained data can be applied in the field of experimental pharmacology associated with the use of laboratory mini pigs and will help to differentiate changes caused by the studied drug from the effects of anesthesia.

REFERENCES

1. Zeltner A., Pedersen H. D. Pigs and minipigs //The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals. 2024. V. 32. P. 570—595. DOI:10.1002/9781119555278.ch32
2. Mirra A. et al. How is depth of anaesthesia assessed in experimental pigs? A scoping review // Plos one. 2023. V. 18. No. 3. P. e0283511. DOI: 10.1371/journal.pone.0283511
3. Laien X. U. E. Anesthetic Effects of Zoletil and Xylazine on Bama Mini-pigs //Laboratory Animal and Comparative Medicine. 2022. V. 42. No. 1. P. 26—30. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2021.103
4. Sørensen NB. Subretinal surgery: functional and histological consequences of entry into the subretinal space. Acta Ophthalmol. 2019 Nov;97 Suppl A114:1—23. DOI: 10.1111/aos.14249. PMID: 31709751
5. Landau A. M. et al. Type of Anaesthetic Influences [11 C] MDL100, 907 Binding to 5HT 2A Receptors in Porcine Brain //Molecular Imaging and Biology. 2020. V. 22. P. 797—804. DOI: 10.1007/s11307-020-01476-x. PMID: 31993926
6. Bondareva E. D. et al. Recommended methods of watering laboratory animals. Technical peculiarities. Ensuring the well-being and health of laboratory animals // Laboratornye zhivotnye dlya nauchnykh issledovaniy (Laboratory animals for research). 2022. No. 2. P. 71—78. — DOI: 10.29296/2618723X-2022-02-08
7. J. Guillén et al. Zootechnical aspects of keeping laboratory animals // GLP-PLANET Consultant. Opinion of the pharmaceutical industry. 2021. P. 87—97. DOI: 10.29296/978-5-7724-0177-4-s4-02
8. Akimova M. A. et al. Standards for the care of laboratory animals at breeding stations by zootechnicians // Laboratornye zhivotnye dlya nauchnykh issledovaniy (Laboratory animals for research). 2024. No. 1. P. 42—51. DOI: 10.57034/2618723X-2024-01-05
9. Akimov D. Yu. et al. Preventive therapeutic measures in preclinical studies (antiparasitic treatment) // Laboratornye zhivotnye dlya nauchnykh issledovaniy (Laboratory animals for research). 2020. No. 4. P. 43—55. DOI: 10.29296/2618723X-2020-04-05

10. *Sahinovic M. M., Struys M. M. R. F., Absalom A. R.* Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of propofol // *Clinical pharmacokinetics*. 2018. V. 57. No. 12. P. 1539—1558. DOI: 10.1007/s40262-018-0672-3
11. *Bandschapp O.* et al. Analgesic and antihyperalgesic properties of propofol in a human pain model // *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*. 2010. V. 113. No. 2. P. 421—428. DOI: 10.1097/ALN.0b013e-3181e33ac8
12. *Fassoulaki A.* Is propofol an analgesic // *European Journal of Anaesthesiology* | EJA. 2011. V. 28. No. 7. P. 481—482. DOI: 10.1016/j.annemergmed.2007.09.034
13. *Van Allen NR, Krafft PR, Leitzke AS, Applegate RL 2nd, Tang J, Zhang JH.* The role of Volatile Anesthetics in Cardioprotection: a systematic review. *Med Gas Res*. 2012. No. 2(1). P. 22. DOI: 10.1186/2045-9912-2-22.
14. *Bureš J.* et al. Wireless monitoring of gastrointestinal transit time, intra-luminal pH, pressure and temperature in experimental pigs: a pilot study // *ACTA MEDICA*. 2023. V. 66. No. 1. P. 11—18. DOI: 10.14712/18059694.2023.9
15. *Kajimoto M.* et al. Propofol compared with isoflurane inhibits mitochondrial metabolism in immature swine cerebral cortex // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2014. V. 34. No. 3. P. 514—521. DOI: 10.1038/jcbfm.2013.229
16. *Carlsen M. F.* et al. Implantation of telemetric blood pressure transmitters in Göttingen Minipigs: Validation of 24-h systemic blood pressure and heart rate monitoring and influence of anaesthesia // *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 2022. V. 115. P. 107—168. DOI: 10.1016/j.vascn.2022.107168
17. *Mazaheri-Khameneh R.* et al. Evaluation of clinical and paraclinical effects of intraosseous vs intravenous administration of propofol on general anesthesia in rabbits // *Veterinary Research Forum*. — Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran, 2012. V. 3. No. 2. P. 103.
18. *Oladimeji M. A.* et al. A comparison of the effect of isoflurane and propofol on liver enzymes // *Journal of West African College of Surgeons*. 2022. V. 12. No. 2. P. 28—33. DOI: 10.4103/jwas.jwas_69_22
19. *Chen N.* et al. Propofol mediates bone metastasis by regulating PC-derived exosomal miR-142—3p // *Bulletin du Cancer*. 2023. V. 110. No. 3. P. 265—274. DOI: 10.1016/j.bulcan.2023.01.008
20. *Ray C. S.* et al. Low alkaline phosphatase (ALP) in adult population an indicator of zinc (Zn) and magnesium (Mg) deficiency // *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*. 2017. V. 5. No. 3. P. 347—352. DOI: 10.12944/CRNFSJ.5.3.20

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

- D. Yu. Akimov** — Chief Veterinarian; Applicant for a Degree;
M. N. Makarova — Doctor of Medical Sciences, Director;
N. A. Filippova — Veterinarian of the Division Laboratory Mini Pigs;
S. O. Khan — Veterinary Assistant of the Division Laboratory Mini Pigs;
P. D. Shabanov — Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Neuropharmacology Department named after S. V. Anichkov;
M. M. Lyashenko — Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor;
E. A. Lyashenko — Candidate of Biological Sciences, Associate Professor.

The article was submitted 07.10.2024.

Научная статья

УДК 619:615.28:618.19—002:636.22/.28

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2024.4.23

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА НЕРОЛАКТ НА МОЛОЧНУЮ ЖЕЛЕЗУ КОРОВ ПРИ ИНТРАЦИСТЕРНАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ

Анатолий Викторович Галкин

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Воронеж, Россия, agalkin702@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0008-1947-4552>

Аннотация. В связи с проблемой недостаточной эффективности лечебных средств для лечения мастита у коров постоянно ведется поиск новых комбинаций антимикробных препаратов. Наиболее часто используемым способом лечения мастита коров являются применение комплексных антимикробных препаратов путем внутривыменного введения. При разработке таких препаратов, одним из необходимых условий является изучение влияния препарата на состояние молочной железы здоровых животных и изучение возможных негативных реакций во время применения. Целью исследований являлось определение влияния комплексного антимикробного препарата неролакт на состояние молочной железы коров после однократного интрацистернального введения. В результате проведенных исследований было определено, что однократное интрацистернальное введение препарата как в терапевтической дозе, так и в 3 раза ее превышающей не вызывает негативного влияния на состояние молочной железы клинически здоровых лактирующих коров. Было отмечено незначительное повышение числа соматических клеток (раздражающее действие), которое проходит через 48 часов. Результаты исследований согласуются с данными R. Miller (1977) по использованию лекарственных средств вводимых интрацистернально, в соответствии с которыми лекарственные средства вызывающие незначительное раздражение тканей молочной железы сроком не более 96 часов, пригодны для лечения коров, больных маститом.

Ключевые слова: неролакт, молочная железа, мастит, содержание соматических клеток, молоко, реакция раздражения

Клинический мастит у молочного скота имеет значительные последствия, включая неблагоприятное воздействие на здоровье и благополучие коров, финансовые потери для производителей молока и проблемы общественного здравоохранения из-за широкого использования антибиотиков для лечения. Поэтому необходимо внедрять эффективные стратегии управления, которые также позволяют разумно использовать антибиотики [1]. Мастит вызывается более чем 136 микроорганизмами. Это ставит перед производителями молока, ветеринарными врачами и исследователями ряд задач по пониманию и определению наиболее эффективных диагностических средств и изыскание новых комплексных препаратов широкого спектра действия [2, 3]. При создании новых лекарственных препаратов необходимо учитывать нежелательные последствия их применения, разработчик должен провести необходимые исследования и продемонстрировать, что продукт, который он предлагает для

лечения, безопасен для целевого вида животных. Изучение количества соматических клеток служит индикатором раздражения паренхимы вымени, дает представление о качестве молока и развитии воспалительного процесса в вымени, и является одним из способов определения степени влияния используемых лекарственных средств для интрацистернального введения при лечении мастита коров [4]. Неролакт — комплексный препарат для лечения различных форм мастита коров, созданный на основе антибиотиков цефтиофура гидрохлорида, марбофлоксацина а также преднизолона, обладает высокой терапевтической эффективностью при различных формах мастита у лактирующих коров [5]. В процессе изучения литературы по данному вопросу было установлено, что при оценке влияния препаратов на основе цефтиофура на состояние вымени и организма коров при их интрацистернальном введении, лекарственные средства представляли собой монопрепараты [6—8]. Информации

© Галкин А. В., 2024

из открытых литературных источников о проведении исследований по безопасности марбофлоксацина при лечении мастита коров путем интрацистернального введения не найдено [9].

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния неролакта на клинический статус и состояние молочной железы коров после однократного интрацистернального введения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования по влиянию неролакта на молочную железу коров проводили в ЗАО «Родина» Павловского района Воронежской области на 8 клинически здоровых коровах красно-пестрой породы 2—4 месяца лактации, весом до 550—600 кг, которые были разделены на две группы.

Первой опытной группе ($n = 4$) препарат, подогретый до температуры тела животного, вводили интрацистернально в количестве 5 мл (терапевтическая доза — ТД) в правую переднюю долю вымени после предварительного выдаивания молока и обеззараживания сосков (левая передняя доля служила контролем).

Второй опытной группе ($n = 4$) препарат в количестве 15 мл (трехкратная терапевтическая доза — 3 ТД) вводили аналогичным способом в три доли по 5 мл (левую переднюю, левую заднюю и правую заднюю; правая передняя доля служила контролем).

Влияние неролакта на ткани молочной железы оценивали по клиническим изменениям, реакцией секрета вымени с диагностикомом масттест и по числу соматических клеток в молоке. Отбор проб молока проводили до введения препарата и через 12, 24, 48, 72 часа. Количество соматических клеток определяли с помощью анализатора соматических клеток в молоке DCC производства De Laval.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении раздражающего действия Неролакта на молочную железу лактирующих коров визуально опытные и контрольные доли вымени не отличались друг от друга. Местная температура опытных четвертей молочной железы не повышалась. Надвымянные лимфатические узлы по консистенции, подвижности и величине соответствовали исходным данным. Кожа оставалась эластичной и безболезненной. Снижения удоя молока у опытных коров в сравнении с периодом до испытаний не наблюдалось.

Установлено, что реакция секрета вымени из контрольных долей молочной железы с диагностикомом Масттест была отрицательной на протяжении всего опыта. После внутрцистернального введения неролакта (первая опытная группа) реакция секрета вымени через 12 часов была слабopоложительной (++) у двух коров и сомнительной (+) у двух коров, через 24 часа — сомнительной (+) у двух коров, через 48 часов сомнительной (+) у одной коровы, через 72 часа — отрицательной (–) у всех коров. Во второй опытной группе также было установлено, что реакция секрета вымени из контрольных долей молочной железы с диагностикомом была отрицательной на протяжении всего опыта. После интрацистернального введения неролакта в количестве 15 мл на животное реакция секрета вымени через 12 часов была слабopоложительной (++) у трех коров и у одной — сомнительной (+), через 24 часа — сомнительной (+) у двух коров, у двух коров слабopоложительной (++) через 48 часов — сомнительной (+) у двух коров, а через 72 часа — отрицательной (–) у всех коров.

Из данных рисунка 1 видно, что после интрацистернального введения неролакта в дозе 5 мл на животное (ТД) через 12 часов происходит достоверное увеличение числа соматических клеток в 4,23 раза ($618,5 \pm 137,4$ тыс/мл), через 24 часа — в 5,48 раза ($802,5 \pm 155,0$ тыс/мл), через 48 часов происходит снижение относительно предыдущего уровня на 23 % ($629,8 \pm 117,4$ тыс/мл); через 72 часа различия по отношению с исходным показателем не достоверны, но соответствуют уровню соматических клеток в пределах нормативно допустимого количества ($243,3 \pm 32,1$ тыс/мл).

Аналогичная тенденция отмечается и после интрацистернального введения неролакта в дозе 15 мл на животное (3ТД). Через 12 часов происходит достоверное увеличение числа соматических клеток в 5,11 раз ($742,0 \pm 118,4$ тыс/мл), через 24 часа — в 6,42 раза ($932,0 \pm 149,5$ тыс/мл), через 48 часов происходит снижение относительно предыдущего уровня на 33,3 % ($622,8 \pm 48,5$ тыс/мл); через 72 часа — показатель в пределах допустимого нормативами уровня ($206,0 \pm 23,0$ тыс/мл).

Следовательно, результаты исследований по влиянию неролакта на молочную железу клинически здоровых лактирующих коров свидетельствуют о том, что однократное интрацистернальное введение препарата, как в терапевтической дозе (ТД), так и в 3 раза ее превышающей (3ТД), приводит к повышению числа соматических клеток (раздражающее действие), проходящее через 48 часов.

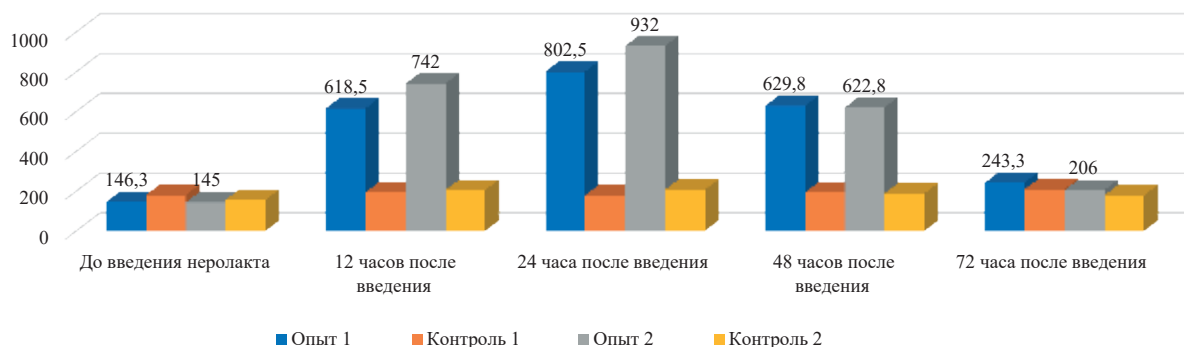


Рис. 1. Количество соматических клеток после интрацистернального введения Неролакта, тыс./мл

Наши исследования согласуются с данными по испытанию препарата на основе цефтиофура гидрохлорида, где после инфузии внутривыменно здоровым коровам с очень низким уровнем соматических клеток перед инфузией (до 100 000 клеток/мл) наблюдалось временное и клинически незначительное повышение уровня соматически клеток до уровня выше 200 000 клеток/мл. Такое повышение характерно для суспензий на масляной основе. Продолжительность терапии не влияло на это повышение. Не было отмечено клинических признаков раздражения вымени (отек, боль или покраснение), изменений температуры тела или выработки молока [10]. По данным R. Miller (1977): препараты для лечения мастита коров, вводимые интрацистернально и вызывающие незначительное раздражение тканей молочной железы сроком не более 96 часов, пригодны для лечения коров, больных маститом [11].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что однократное интрацистернальное введение препарата неролакт как в терапевтической дозе (ТД), так и в 3 раза ее превышающей (ЗТД) не вызывает негативного влияния на молочную железу и общее состояние клинически здоровых лактирующих коров. Наблюдается повышение числа соматических клеток, свидетельствующее о незначительном раздражающем действии препарата, которое проходило через 48 часов. Согласно R. Miller (1977) препарат неролакт пригоден для лечения коров, больных маститом в лактационный период.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Li X. Alternatives to antibiotics for treatment of mastitis in dairy cows/Xiaoping Li, Chuang Xu, Bingchun Liang, John P. Kastelic, Bo Han, Xiaofang Tong and Jian Gao //

Front Vet Sci. 2023; 10: 1160350. doi: 10.3389/fvets. 2023. 1160350

2. Kour S. Advances in Diagnostic Approaches and Therapeutic Management in Bovine Mastitis/ Savleen Kour, Neelesh Sharma, Balaji N., Pavan Kumar, Jasvinder Singh Soodan, Marcos Veiga dos Santos and Young-Ok Son // Vet Sci. 2023 Jul; 10(7): 449. doi: 10.3390/vetsci10070449

3. Брюхова И. В. Изучение влияния препарата «Прималакт» на организм и молочную железу лактирующих коров /И. В. Брюхова, Н. Т. Климов, Н. А. Хохлова, Ю. А. Чаплыгина // Аграрный вестник Урала. 2020. № 03 (194). С. 49–56. DOI: 10.32417/1997-4868-2020-194-3-49-56

4. CVM GFI #49 Target Animal Safety And Drug Effectiveness Studies for Anti-Microbial Bovine Mastitis Products (Lactating and Non-Lactating Cow Products) APRIL 1996 //FDA-1993-D-0285 — <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/cvm-gfi-49-target-animal-safety-and-drug-effectiveness-studies-anti-microbial-bovine-mastitis>.

5. Галкин А. В. Клинические испытания неролакта для лечения различных форм мастита у коров /А. В. Галкин, Г. Г. Чусова, И. С. Перепелкина — DOI:10.17238/issn2541-8203.2024.3.68. // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2024. — № 3(28) — С. 68—73.

6. Cortinhas C. Randomized clinical trial comparing ceftiofur hydrochloride with a positive control protocol for intramammary treatment of nonsevere clinical mastitis in dairy cows/ Cristina Simões Cortinhas, Tiago Tomazi, Mário Sérgio Ferreira Zoni, Elio Moro, Marcos Veiga dos Santos // Journal of Dairy Science. Volume .99, Issue 7, July 2016, Pages 5619—5628.

7. EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products) Committee for veterinary medicinal products. Ceftiofur. Summary report (2) EMEA/MRL/498/98-FINAL. Report dated July 1999.

8. EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products) Committee for veterinary medicinal products. Ceftiofur. Summary report (3) EMEA/MRL/835/02-FINAL April 2002.

9. EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products) EMEA/MRL/079/96-FINAL March 1996.

Committee for veterinary medicinal products. Marbofloxacin. — March 2021).

10. <https://www.zoetisus.com/products/dairy/spectramast-lc>.

11. *Miller R.* Proposed intramammary infusion product guialelius. // *J. Am. Veter. Med. Ass.* 1977. V. 10. No. 2. Pp. 1203—1204.

12. *Павленко О. Б.* Оценка раздражающего действия растворов наносеребра на молочную железу клинически здоровых лактирующих коров / *Павленко О. Б., Зимников В. И., Ческидова Л. В., Фальков В. А.* // *Ветеринарный фармакологический вестник.* 2024. — № 3 (28) С. 25—29.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ

А. В. Галкин — аспирант.

Статья поступила в редакцию 07.11.2024.

Original article

UDC 619:615.28:618.19—002:636.22/.28

EFFECT OF THE DRUG NEROLAKT ON THE MAMMARY GLAND OF COWS IN CASE OF INTRACISTERNAL ADMINISTRATION

Anatoliy Viktorovich Galkin

*All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy
Voronezh, Russia, agalkin702@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0008-1947-4552>*

Abstract. Due to the problem of insufficient efficacy of medicinal products for the treatment of bovine mastitis, new combinations of antimicrobial drugs are constantly being searched for. The most frequently used method of treating bovine mastitis is the use of complex antimicrobial drugs by intra-udder administration. When designing such drugs, one of the necessary conditions is to study the effect of the drug on the condition of the mammary gland of healthy animals and the study of possible negative reactions during use. The research objective was to determine the effect of the complex antimicrobial drug Nerolakt on the condition of the mammary gland of cows after a single intracisternal administration. As a result of the studies, it was determined that a single intracisternal administration of the drug both at a therapeutic dose and at a dose three times higher than the therapeutic one does not cause a negative effect on the condition of the mammary gland of clinically healthy lactating cows. A slight increase in the somatic cell count (irritant effect) was noted, which disappeared in 48 hours. The results of the studies are consistent with the data of R. Miller (1977) on the use of drugs administered intracisternally, according to which the drugs causing minor irritation of the mammary gland tissue for a period of no more than 96 hours are suitable for the treatment of cows with mastitis.

Keywords: Nerolakt, mammary gland, mastitis, somatic cell count, milk, irritant effect

Clinical mastitis in dairy cattle has significant consequences including adverse effects on cows' health and welfare, financial losses to dairy producers and public health issues due to the widespread use of antibiotics for treatment. Therefore, it is necessary to implement effective management strategies that also allow for the judicious use of antibiotics [1]. Mastitis is caused by more than 136 microorganisms. This poses a number of challenges for dairy producers, veterinarians and researchers to understand and identify the most effective diagnostic tools and to find new broad-spectrum complex drugs [2, 3]. When designing new drugs, it is necessary to take into account the undesirable effects of their use, the drug designer must conduct the necessary research and demonstrate that the product he proposes for treatment is safe for the target animal species. The study of the somatic cell count serves as an indicator of udder parenchyma irritation, gives an idea of the quality of milk and the development of the inflammatory process in the udder, and is one of the ways to determine the degree of effect of the drugs used for intracisternal administration in the treatment of bovine mastitis [4]. Nerolakt is a complex drug for the treatment of various forms of bovine mastitis, de-

signed on the basis of antibiotics ceftiofur hydrochloride, marbofloxacin and prednisolone, has high therapeutic efficacy in case of various forms of mastitis in lactating cows [5]. In the process of studying the literature on this issue, it had been found that when assessing the effect of drugs based on ceftiofur on the condition of the udder and the body of cows in case of their intracisternal administration, the drugs were monodrugs [6—8]. There was found no information from publicly available literary sources on the conduct of studies on the safety of marbofloxacin in the treatment of bovine mastitis with intracisternal administration [9].

The research objective was to study the effect of Nerolakt on the clinical status and condition of the mammary gland of cows after a single intracisternal administration.

MATERIAL AND METHODS

The study of the effect of Nerolakt on the mammary gland of cows was conducted at CJSC "Rodina" (Pavlovsk r., Voronezh Region) on 8 clinically healthy Red-Motley cows of 2—4 months of lactation, weighing up to 550—600 kg. The animals were divided into two groups. The animals of the first experimental group

($n = 4$) were administered the drug, heated to the animal's body temperature, intracisternally in an amount of 5 ml (therapeutic dose — TD) into the right anterior lobe of the udder after preliminary milking and disinfection of the teats (the left anterior lobe served as a control). The second experimental group ($n = 4$) received the drug in an amount of 15 ml (three-fold therapeutic dose — 3 TD) in a similar manner into three lobes of 5 ml each (left anterior, left posterior and right posterior; the right anterior lobe served as a control). The effect of Nerolakt on mammary gland tissue was assessed by clinical changes, reaction of udder secretion with the diagnosticum Masttest and by the somatic cell count in milk. Milk samples were collected before administration of the drug and in 12, 24, 48, 72 hours. The somatic cell count was detected using the analyzer of somatic cells in milk DCC manufactured by De Laval.

STUDY RESULTS AND DISCUSSION

When studying the irritant effect of Nerolakt on the mammary gland of lactating cows, the experimental and control udder lobes did not differ visually from each other. The local temperature of the experimental quarters of the mammary gland did not increase. The supramammary lymph nodes corresponded to the initial data in consistency, mobility and size. The skin remained elastic and painless. No decrease in milk yield in the experimental cows was observed, compared to the period before the tests.

It was found that the reaction of the udder secretion from the control lobes of the mammary gland with the diagnosticum Masttest was negative throughout the experiment. After intracisternal administration of Nerolakt (the first experimental group), the reaction of the udder secretion in 12 hours was weakly positive (++) in two cows and doubtful (+) in two cows, in 24 hours — doubtful (+) in two cows, in 48 hours — doubtful (+) in one cow, in 72 hours — negative (–) in all cows. In the second experimental group, it was also found that the reaction of the udder secretion from the control lobes of the mammary gland with the diagnosticum was negative throughout the experiment. After intracisternal administration of Nerolakt in an amount of 15 ml per animal, the reaction of the udder secretion in 12 hours was weakly positive (++) in three cows and doubtful (+) in one, in 24 hours — doubtful (+) in two cows, weakly positive (++) in two cows, in 48 hours — doubtful (+) in two cows, and in 72 hours — negative (–) in all cows.

From the data in Fig. 1 it is evident that after intracisternal administration of Nerolakt at a dose of 5 ml per animal (TD), in 12 hours there is a reliable increase

in the somatic cell count by 4.23 times (618.5 ± 137.4 ths/ml), in 24 hours — by 5.48 times (802.5 ± 155.0 ths/ml), in 48 hours there is a decrease relative to the previous level by 23 % (629.8 ± 117.4 ths/ml); in 72 hours, the differences in relation to the initial indicator are not reliable, but correspond to the level of somatic cells within the normatively permissible amount (243.3 ± 32.1 ths/ml). A similar trend is observed after intracisternal administration of Nerolakt at a dose of 15 ml per animal (3TD). In 12 hours, there is a reliable increase in the somatic cell count by 5.11 times (742.0 ± 118.4 ths/ml), in 24 hours — by 6.42 times (932.0 ± 149.5 ths/ml), in 48 hours there is a decrease relative to the previous level by 33.3 % (622.8 ± 48.5 ths/ml); in 72 hours — the indicator is within the permissible level of standards (206.0 ± 23.0 ths/ml).

Therefore, the results of the studies on the effect of Nerolakt on the mammary gland of clinically healthy lactating cows indicate that a single intracisternal administration of the drug, both at the therapeutic dose (TD) and at a dose three times higher than the therapeutic one (3TD), leads to an increase in the somatic cell count (irritant effect), which disappears in 48 hours.

Our studies are consistent with the data from a trial of a drug based on ceftiofur hydrochloride, where after intramammary infusion in healthy cows with very low somatic cell count before infusion (up to 100 000 cells/ml), there was observed a temporary and clinically insignificant increase in the somatic cell count to a level above 200 000 cells/ml. Such an increase is typical for oil-based suspensions. The duration of therapy did not affect this increase. There were noted no clinical signs of udder irritation (swelling, pain or redness), changes in body temperature or milk production [10]. According to R. Miller (1977), the drugs for the treatment of bovine mastitis, administered intracisternally and causing minor irritation of the mammary gland tissue for a period of no more than 96 hours, are suitable for the treatment of cows with mastitis [11].

CONCLUSION

The results of the conducted studies indicate that a single intracisternal administration of the drug Nerolakt both at the therapeutic dose (TD) and at a dose three times higher than the therapeutic one (3TD) does not cause a negative effect on the mammary gland and the general condition of clinically healthy lactating cows. An increase in the somatic cell count is observed, indicating a slight irritant effect of the drug, which passed in 48 hours. According to R. Miller (1977), the drug Nerolakt is suitable for the treatment of cows with mastitis during the lactation period.

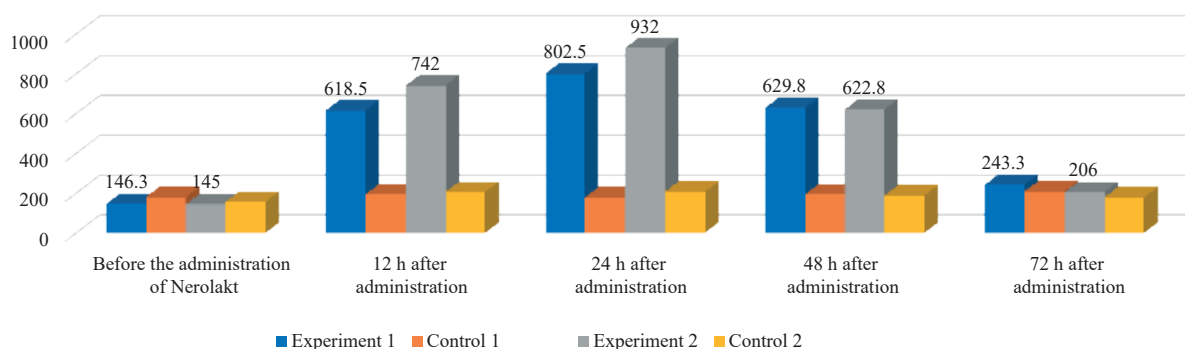


Fig. 1. Somatic cell count after intracisternal administration of Nerolakt, ths/ml

REFERENCES

1. *Li X.* Alternatives to antibiotics for treatment of mastitis in dairy cows / Xiaoping Li, Chuang Xu, Bingchun Liang, *John P. Kastelic*, Bo Han, Xiaofang Tong and Jian Gao // *Front Vet Sci.* 2023; 10: 1160350. doi: 10.3389/fvets. 2023. 1160350
2. *Kour S.* Advances in Diagnostic Approaches and Therapeutic Management in Bovine Mastitis/ Savleen Kour, Neelesh Sharma, *Balaji N.*, Pavan Kumar, Jasvinder Singh Soodan, Marcos Veiga dos Santos and Young-Ok Son // *Vet Sci.* 2023 Jul; 10(7): 449. doi: 10.3390/vetsci10070449
3. *Bryukhova I. V.* Study of the effect of the drug “Primalact” on the body and mammary gland of lactating cows / I. V. Bryukhova, N. T. Klimov, N. A. Khokhlova, Yu. A. Chaplygina // *Agrarnyy vestnik Urala (Agrarian Bulletin of the Urals)*. 2020. No. 03 (194). P. 49–56. DOI: 10.32417/1997-4868-2020-194-3-49-56
4. CVM GFI #49 Target Animal Safety And Drug Effectiveness Studies for Anti-Microbial Bovine Mastitis Products (Lactating and Non-Lactating Cow Products) APRIL 1996 // FDA-1993-D-0285 — <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/cvm-gfi-49-target-animal-safety-and-drug-effectiveness-studies-anti-microbial-bovine-mastitis>.
5. *Galkin A. V.* Clinical trials of Nerolakt for the treatment of various forms of bovine mastitis / A. V. Galkin, G. G. Chusova, I. S. Perepelkina — DOI: 10.17238/issn2541-8203.2024.3.68. // *Bulletin of Veterinary Pharmacology*. — 2024. — No. 3 (28) — P. 68—73.
6. *Cortinhas C.* Randomized clinical trial comparing ceftiofur hydrochloride with a positive control protocol for intramammary treatment of nonsevere clinical mastitis in dairy cows/ Cristina Simões Cortinhas, Tiago Tomazi, Mário Sérgio Ferreira Zoni, Elio Moro, Marcos Veiga dos Santos // *Journal of Dairy Science*. Volume 99, Issue 7, July 2016, Pages 5619—5628.
7. EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products) Committee for veterinary medicinal products. Ceftiofur. Summary report (2) EMEA/MRL/498/98-FINAL. Report dated July 1999.
8. EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products) Committee for veterinary medicinal products. Ceftiofur. Summary report (3) EMEA/MRL/835/02-FINAL April 2002.
9. EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products) EMEA/MRL/079/96-FINAL March 1996. Committee for veterinary medicinal products. Marbofloxacin. — March 2021).
10. <https://www.zoetisus.com/products/dairy/spectra-mast-lc>.
11. *Miller R.* Proposed intramammary infusion product guailelius. // *J. Am. Veter. Med. Ass.* 1977. V. 10. No. 2. P. 1203—1204.
12. *Pavlenko O. B.* Assessment of the irritant effect of nanosilver solutions on the mammary gland of clinically healthy lactating cows / *Pavlenko O. B.*, *Zimnikov V. I.*, *Cheskidova L. V.*, *Falkov V. A.* // *Bulletin of Veterinary Pharmacology*. 2024. — No. 3 (28) -P. 25—29.

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

A. V. Galkin — Postgraduate Student.

The article was submitted 07.11.2024.

Научная статья

УДК 615:616.007.12

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2024.4.30

СПЕЦИФИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ СУРФАГОНА НА ИНФАНТИЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

Аброр Абзорович Холиков*✉, Худайназар Бекназарович Юнусов**,
Низом Очилович Фарманов***

* **, ***Самаркандский государственный университет ветеринарной медицины,
животноводства и биотехнологии, Самарканд, Узбекистан, Urgut61@umail.uz✉

Аннотация. В статье представлены результаты экспериментов, проведенных на инфантильных крысах по определению фармакологической активности сурфагона. Сурфагон у инфантильных крыс вызывает преждевременную бурную течку и значительно увеличивает вес половых органов, также существенно изменяет кровообращение в матке. Яичники под влиянием малых доз сурфагона, вводимого однократно, у инфантильных крыс существенно не изменяются, а при многократном введении малых доз, а также от средних и больших доз (однократно) — усиливается кровообращение и заметно увеличиваются размеры.

Ключевые слова: сурфагон, инфантильные крысы, экспериментальный период, половые гормоны, доза, интервалы

Известно, что гормональные препараты являются активными действующими веществами, оказывающими многогранное влияние. Они уже в малых дозах оказывают значительное влияние на органы половой системы самок, а в более высоких дозах — также и на мужскую половую систему; при их применении происходят существенные изменения функционального состояния различных систем организма [1, 2, 5, 6].

В литературе встречаются единичные случаи, касающиеся выяснения того или иного влияния сурфагона на организм животных, так как он, являясь пролонгатором, обладает медленным и длительным действием [3, 4, 7, 8].

Значительный интерес представляет действие гормональных препаратов на инфантильных животных, в организме которых в период течения полового цикла вообще не продуцируются эстрогены. Исследования этой проблемы начаты давно, однако не теряют актуальности и в наши дни.

Цель исследований — изучить специфическое действие сурфагона на инфантильных животных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проведены в виварии Самаркандского государственного университета ветеринарной медицины, животноводства и биотехноло-

гии. В опыт включены 30 инфантильных крыс (самки) в возрасте 2—3 недель. Инфантильные крысы имели живой вес 18—23 г. У этой возрастной группы животных при нормальном развитии не наступают спонтанная течка и другие изменения в половых органах (феномены полового цикла), которые систематически происходят, как нормальный процесс у взрослых животных. В эксперименте подопытных инфантильных крыс разделили на пять групп. Схема проведения исследований представлена в таблице 1.

Животным первой группы сурфагон вводили однократно в дозе 1 мкг/гол. Крысам второй группы инъецировали сурфагон пятикратно с интервалами 24 часа в той же дозе, что и животным первой группы. Животным третьей группы сурфагон однократно в дозе 2 мкг/гол, четвертой — пятикратно в той же дозе. Крысам группы контроля (группа 5) вводили абрикосовое масло в объеме 0,2 мл. Во второй и четвертой группах опыт продолжался 14 дней, в первой и третьей — по 6 дней. Исследования половых органов опытных животных во всех группах проводили на 60 день после заключительной инъекции сурфагона. При макроскопических исследованиях определяли вес матки с яичниками — с секретом и без него. Основным критерием при учете специфической реакции половых органов на действие сурфагона являлось изменение веса матки с яичниками без содержимого секрета.

Таблица 1

Схема проведения исследований

№ группы	Количество животных	Доза сурфагона, мкг/гол	Кратность введения
1	3	1	1
2	3	1	5
3	3	2	1
4	3	2	5
5	3	—	—

Полученные данные подвергнуты математической обработке методом вариационной статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В зависимости от дозы и кратности введения сурфагона у животных вначале наблюдалась гиперемия, затем припухание и увеличение размеров наружных половых органов.

При исследовании макроструктуры половых органов после убоя подопытных животных установлены закономерные изменения, происходившие в зависимости от дозы и кратности введения сурфагона. Половые органы макроскопически были сильно изменены.

После однократной инъекции препарата в дозах 1 и 2 мкг/гол. половые органы инфантильных крыс были увеличены в размерах, гиперемированы, кровеносные сосуды кровенаполнены, имели фиолетово-серый или ярко-красный цвет. У крыс, которым сурфагон вводили однократно в дозе 2 мкг/гол. (третья группа), рога матки были увеличены в объеме и заполнены маточной жидкостью (секретом), у животных, которым сурфагон инъекцировали по 1 мкг/гол. (первая группа) отмечены менее выраженные изменения.

Увеличение размеров половых органов можно отчетливо заметить макроскопически. При осмотре подопытных инфантильных крыс было констатировано, что матка имеет признаки сходства с половыми органами взрослых крыс в ранние сроки беременности.

При пятикратном введении сурфагона в дозе 1 и 2 мкг/гол. половые органы значительно увеличены в размерах, стенки рогов матки истончены, полости, как правило, заполнены секретом темно-синего или темно-бурого цвета.

Яичники у подопытных крыс заметно увеличены в размерах, в большинстве случаев имели при-

знаки анемии, малокровные. Только в четырех случаях, где сурфагон инъекцировали пятикратно, яичники были гиперемированы с синевато-красными или синевато-черными возвышениями с просяное зерно на поверхности.

Половые органы у контрольных животных анемичные, рога матки тонкие, в виде белого шнура.

Таким образом, однократная инъекция сурфагона в дозах 1 и 2 мкг/гол. активизирует кровообращение в половых органах, усиливает секрецию маточных желез, способствует скоплению жидкости в полости рогов матки. Дальнейшие инъекции препарата в указанных дозах углубляют и чрезмерно усиливают отмеченные процессы, в результате чего регистрируются нарушения закономерного роста в развитии половых органов под влиянием сурфагона.

Результаты макроскопических исследований половых органов крыс под влиянием сурфагона представлены в таблице 2.

Установлено, что вес отпрепарованных маток с яичниками у контрольных животных колеблется между 53,9 и 86,0 мг. Средний вес достигает 70,1 мг. Вес же матки с яичниками у инфантильных крыс под влиянием сурфагона был сильно увеличен.

Максимальное увеличение веса матки с яичниками отмечено у крыс четвертой группы, где препарат инъекцировали пятикратно в дозе 2 мкг/гол. В некоторых случаях абсолютный вес матки с содержимым секретом достигал 298,2 мг (относительный вес 4,80).

При однократной инъекции сурфагона в дозе 2 мкг/гол. вес матки (без содержимого) с яичниками колебался между 123,6 и 145,0 мг; при пятикратном введении — от 234,6 до 296,2 мг. При однократном введении препарата в дозе 1 мкг/гол. вес матки с яичниками варьировал между 78,3 и 103,7 мг, при пятикратной инъекции от 153,9 до 216,1 мг.

Таблица 2

Показатели изменение веса половых органов инфантильных крыс под влиянием сурфагона

№ Групп	Количество животных	Доза сурфагона (мкг/гол)	Кратность введения	Показатели изменения веса матки с яичниками, мг				
				М ± м	г	t	Предел колебаний при P < 0,05	P <
1	7	0,3	1	91,1 ± 5,2	13,79	2,50	78,3:103,7	0,050
2	7	0,3	5	185,3 ± 12,7	33,57	8,04	153,9:216,1	0,001
3	7	2,0	1	134,4 ± 4,4	11,45	8,07	123,6:145,0	0,001
4	7	2,0	5	266,2 ± 12,9	34,24	9,38	234,6:298,2	0,001
5	5	—	—	70,1 ± 6,6	12,90	—	53,99:86,01	—

При однократном введении препарата в дозе 1 мкг/гол., по сравнению с контролем, происходило увеличение веса матки с яичниками на 150,0 % (91,1 ± 5,2 мг; P < 0,05), при пятикратной инъекции в той же дозе — на 264,3 % (185,3 ± 12,7 мг; P < 0,001). При однократном введении сурфагона в дозе 2 мкг/гол. вес матки с яичниками инфантильных крыс увеличивался на 191,4 % (134,4 ± 4,4 мг; P < 0,001), при пятикратном — на 380,0 % (266,2 ± 12,9 мг; P < 0,001).

Проведенные исследования показали, что сурфагон вызывает преждевременную бурную течку (наряду с другими феноменами полового цикла) и увеличивает вес половых органов у инфантильных животных. Это влияние препарата тем сильнее выражено, чем больше его дозировка и кратность введения животному.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. У инфантильных животных сурфагон вызывает преждевременную бурную течку и значительно увеличивает вес половых органов, а также существенно изменяет кровообращение в матке.

2. Яичники под влиянием малых доз сурфагона, вводимого однократно, у инфантильных крыс существенно не изменяются, а при многократном введении малых доз, а также от средних и больших доз (однократно) в них усиливается кровообращение и заметно увеличиваются размеры.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

А. А. Холиков — доцент;
Х. Б. Юнусов — д. б. н., профессор;
Н. О. Фарманов — доцент.

Статья поступила в редакцию 28.10.2024.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Бреславец В. М. Эффективность различных гормональных препаратов при нормализации дисфункции яичников. // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2013. № 3 (41). С. 252—25
2. Соколов В. Д. Ветеринарная фармакология. // Учебник. Санкт-Петербург, 2010. С. 270—273.
3. Salimov, Yu. Veterinariya farmakologiyasi // O'quv qo'llanma. Tashkent, 2019. 178—182-b.
4. Акчурина Е. С. Эффективность гормональных препаратов для стимуляции воспроизводительной способности коров при гипофункции яичников. Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук. Саратов — 2017. С-118—120.
5. Субботин В. М. Современные лекарственные средства в ветеринарии / В. М. Субботин, С. Г. Субботина, И. Д. Александров. — Ростов-на-Дону: «Феникс», 2010. — 592с.
6. Bartlett S. Oestrogenic in grass and their possible effects on milk secretion / S. Bartlett, J. Polley, S. J. Rowlands // Nature, 2018, 162, p.845
7. Denicol A. C. Low progesterone concentration during the development of the first follicular wave reduces pregnancy per insemination of lactating dairy cows / A. C. Denicol, G. Jr. Lopes // J Dairy Sci. — 2012. — Vol. 95. — № 4. — P. 794—806.
8. Xoliqov A. A. Veterinariya amaliyotida yangi uterogen moddalarni qo'llash. Zooveterinariya jurnali, — № 1, 2009 yil .24—25 bet.

SPECIFIC EFFECT OF SURFAGON ON INFANTILE ANIMALS

Abror Azomovich Kholikov*✉, Khudaynazar Beknazarovich Yunusov**,
Nizom Ochilovich Farmanov***

*. **. ****Samarkand State University of Veterinary Medicine, Animal Husbandry
and Biotechnology, Samarkand, Uzbekistan, Urgut61@umail.uz*✉

Abstract. The article presents the results of experiments conducted on infantile rats to determine the pharmacological activity of surfagon. Surfagon induces premature stormy estrus in infantile rats and significantly increases the weight of the genitals, and also significantly changes blood circulation in the uterus. Under the effect of small doses of surfagon, administered once, the ovaries in infantile rats do not change significantly, and with repeated administration of small doses, as well as from medium and large doses (single), blood circulation increases and their size increases significantly.

Keywords: surfagon, infantile rats, experimental period, sex hormones, dose, intervals

It is known that hormonal drugs are active substances that have a multifaceted effect. Even at small doses they have a significant effect on the organs of the female reproductive system, and at higher doses — also on the male reproductive system; their use causes significant changes in the functional state of various body systems [1, 2, 5, 6].

In the literature, there are isolated cases concerning the clarification of this or that effect of surfagon on the organism of animals, since it, being a prolongator, has a slow and long-lasting effect [3, 4, 7, 8].

The effect of hormonal drugs on infantile animals, in whose organisms no estrogens are produced during the sexual cycle, is of considerable interest. The studies of this problem have began a long time ago, but it has not lost its relevance to this day.

The research objective is to study the specific effect of surfagon on infantile animals.

MATERIAL AND METHODS

The research was conducted in the vivarium of Samarkand State University of Veterinary Medicine, Animal Husbandry and Biotechnology. The experiment included 30 infantile rats (females) aged 2—3 weeks. Infantile rats had a live weight of 18—23 g. In this age group of animals, in case of normal development, spontaneous estrus and other changes in the genitals (phenomena of the sexual cycle), which systematically occur as a normal process in adult animals, did not occur.

In the experiment, the experimental infantile rats were divided into five groups. The research scheme is presented in Table 1.

Table 1

Research scheme

Group No.	Number of animals	Surfagon dose, µg/animal	Frequency of administration
1	3	1	1
2	3	1	5
3	3	2	1
4	3	2	5
5	3	—	—

The animals of the first group were injected with surfagon once at a dose of 1 µg/animal. The rats of the second group were injected with surfagon five times with 24-hour intervals at the same dose as the animals of the first group.

The animals of the third group were injected with surfagon once at a dose of 2 µg/animal, the animals of the fourth group — five times at the same dose. The rats of the control group (group 5) were injected with apricot oil in a volume of 0.2 ml. In the second and fourth groups, the experiment lasted 14 days, in the first and third — 6 days.

The studies of the genitals of the experimental animals in all groups were carried out on day 60 after the final injection of surfagon. Macroscopic studies determined the weight of the uterus with ovaries (with and without secretion).

The main criterion for taking into account the specific reaction of the genitals to the action of surfagon was the change in the weight of the uterus with ovaries without the contents of the secretion.

The obtained data were subjected to mathematical processing using the method of variation statistics.

STUDY RESULTS

Depending on the dose and frequency of surfagon administration, the animals initially showed hyperemia, then swelling and an increase in the size of the external genital organs.

When studying the macrostructure of the genitals after slaughtering the experimental animals, regular changes were established that occurred depending on the dose and frequency of surfagon administration. The genitals were macroscopically significantly changed.

After a single injection of the drug at doses of 1 and 2 µg/animal, the genitals of infantile rats were enlarged in size, hyperemic, the blood vessels were filled with blood and had a violet-gray or bright red color. In the rats, to whom surfagon was administered once at a dose of 2 µg/animal, (third group), the uterine horns were enlarged in volume and filled with uterine fluid (secretion), in the animals injected with surfagon at a dose of 1 µg/animal (first group), less pronounced changes were noted.

The increase in the size of the genitals can be clearly seen macroscopically. When examining experimental infantile rats, it was found that the uterus had signs of similarity with the genitals of adult rats in the early stages of pregnancy.

With five-fold administration of surfagon at a dose of 1 and 2 µg/animal, the genitals are significantly enlarged in size, the walls of the uterine horns are thinned,

the cavities are usually filled with a secretion of dark blue or dark brown color.

The ovaries of the experimental rats were noticeably enlarged in size, in most cases had signs of anemia, anemic. Only in four cases, where surfagon was injected five times, the ovaries were hyperemic with bluish-red or bluish-black elevations with a size of a millet grain on the surface.

The genitals of the control animals were anemic, the uterine horns were thin, in the form of a white cord.

Thus, a single injection of surfagon at doses of 1 and 2 µg/animal activates blood circulation in the genitals, increases the secretion of the uterine glands and promotes the accumulation of fluid in the cavity of the uterine horns. Further injections of the drug at the indicated doses deepen and excessively enhance the noted processes, resulting in violations of the regular growth in the development of the genitals under the effect of surfagon.

The results of macroscopic studies of the genitals of rats under the effect of surfagon are presented in Table 2.

It had been found that the weight of the prepared uteruses with ovaries in the control animals fluctuated between 53.9 and 86.0 mg. The average weight reached 70.1 mg. The weight of the uterus with ovaries in infantile rats under the effect of surfagon was greatly increased.

The maximum increase in the weight of the uterus with ovaries was noted in the rats of the fourth group, where the drug was injected five times at a dose of 2 µg/animal. In some cases, the absolute weight of the uterus with the contained secretion reached 298.2 mg (relative weight 4.80).

With a single injection of surfagon at a dose of 2 µg/animal, the weight of the uterus (excluding contents) with ovaries fluctuated between 123.6 and 145.0 mg; with five-fold injection — from 234.6 to 296.2 mg. With a single administration of the drug at a dose of 1 µg/animal, the weight of the uterus with ovaries varied between 78.3 and 103.7 mg, with five-fold injections — from 153.9 to 216.1 mg. With a single administration of the drug at a dose of 1 µg/animal, compared to the control, there was an increase in the weight of the uterus with ovaries by 150.0 % (91.1 ± 5.2 mg; $P < 0.05$), with five-fold injections at the same dose — by 264.3 % (185.3 ± 12.7 mg; $P < 0.001$). With a single administration of surfagon at a dose of 2 µg/animal, the weight of the uterus with ovaries of infantile rats increased by 191.4 % (134.4 ± 4.4 mg; $P < 0.001$), with a five-fold administration — by 380.0 % (266.2 ± 12.9 mg; $P < 0.001$).

Table 2

Indicators of weight change of genitals of infantile rats under the effect of surfagon

Group No.	Number of animals	Surfagon dose ($\mu\text{g}/\text{animal}$)	Frequency of administration	Indicators of weight change of the uterus with ovaries, mg				
				$M \pm m$	r	t	Limit of fluctuations at $P < 0.05$	$P <$
1	7	0.3	1	91.1 ± 5.2	13.79	2.50	78.3:103.7	0.050
2	7	0.3	5	185.3 ± 12.7	33.57	8.04	153.9:216.1	0.001
3	7	2.0	1	134.4 ± 4.4	11.45	8.07	123.6:145.0	0.001
4	7	2.0	5	266.2 ± 12.9	34.24	9.38	234.6:298.2	0.001
5	5	—	—	70.1 ± 6.6	12.90	—	53.99:86.01	—

The conducted studies have shown that surfagon causes premature stormy estrus (along with other phenomena of the sexual cycle) and increases the weight of the genitals in infantile animals. This effect of the drug is more pronounced, the higher its dosage and frequency of administration to the animal.

CONCLUSION

1. In infantile animals, surfagon causes premature stormy estrus and significantly increases the weight of the genitals, and also significantly changes the blood circulation in the uterus.

2. The ovaries under the effect of small doses of surfagon, administered once, do not change significantly in infantile rats, and with repeated administration of small doses, as well as from medium and large doses (single), their blood circulation increases and their size increases noticeably.

REFERENCES

1. *Breslavets V. M.* Efficacy of various hormonal drugs in normalizing ovarian dysfunction. // *Izvestiya Orenburg-*

skogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Bulletin of Orenburg State Agrarian University). 2013. No. 3 (41). P. 252—25

2. *Sokolov V. D.* Veterinary pharmacology. // Textbook. St. Petersburg, 2010. P. 270—273.

3. *Salimov, Yu.* Veterinary pharmacology // O'quv qo'llanma. Tashkent, 2019. 178—182-b.

4. *Akchurina E. S.* Efficacy of hormonal drugs for stimulating the reproductive capacity of cows with ovarian hypofunction. Dissertation for the degree of Candidate of Veterinary Sciences. Saratov — 2017. P-118—120.

5. *Subbotin V. M.* Modern drugs in veterinary medicine / V. M. Subbotin, S. G. Subbotina, I. D. Aleksandrov. — Rostov-on-Don: Phoenix, 2010. — 592p.

6. *Bartlett S.* Oestrogenic in grass and their possible effects on milk secretion / S. Bartlett, J. Polley, S. J. Rowlands // *Nature*, 2018, 162, p.845

7. *Denicol A. C.* Low progesterone concentration during the development of the first follicular wave reduces pregnancy per insemination of lactating dairy cows / A. C. Denicol, G. Jr. Lopes // *J Dairy Sci.* — 2012. — Vol. 95. — No. 4. — P. 794—806.

8. *Xoliqov A. A.* Use of new uterogenic substances in veterinary practice. *Zooveterinary journal*. 1, 2009, p. 24—25.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

A. A. Kholikov — Associate Professor;

Kh. B. Yunusov — Doctor of Biological Sciences, Professor;

N. O. Farmanov — Associate Professor.

The article was submitted 28.10.2024.

Научная статья

УДК 619:615.36:575.224.46

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2024.4.36

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТАБИЛЬНОСТИ КОСТНОГО МОЗГА МЫШЕЙ В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ ГИДРОФИЛЬНОЙ КРИОФРАКЦИИ СЕЛЕЗЕНКИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Дмитрий Игоревич Шабанов

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, am7d@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1574-1317>

Аннотация. Одним из способов поддержания стабильности генома является применение веществ — антимуtagens. Гидрофильная криофракция селезенки крупного рогатого скота (ГКСК) является перспективной фармацевтической субстанцией с антимуtagensными свойствами. Поэтому целью нашей работы явилось исследование влияния ГКСК на цитогенетическую нестабильность, индуцированную циклофосфамидом. В ходе эксперимента были сформированы пять групп мышей по $n = 6$ в каждой: группа негативного контроля (группа I); группа II, которой однократно внутримышечно в дозе 0,5 мл/кг применяли ГКСК, и группы III—V, в которых животные получали внутрибрюшинную инъекцию Эндоксана® в дозе 20 мг/кг. При этом мышам группы III перед инъекцией мутагена однократно вводили ГКСК, а животным из группы IV вводили ГКСК трехкратно с интервалом в 24 ч в дозе 0,5 мл/кг. Через сутки после введения Эндоксана® животных выводили из эксперимента. Получали препараты костного мозга для проведения микроядерного теста. Также исследовали концентрацию внутриклеточных активных форм кислорода (АФК) в клетках костного мозга мышей с помощью флуоресцентного зонда 2,7'-дихлордигидрофлуоресцеина диацетата. Введение ГКСК не приводило к снижению цитогенетической стабильности. Индуцированное циклофосфамидом увеличение частоты МЯПХЭ и содержания внутриклеточных АФК в костном мозге мышей уменьшалось на 50,4 и 40,2 % ($p < 0,05$), соответственно, при трехкратном введении ГКСК, что может свидетельствовать об антиоксидантном действии фармакологической субстанции, которое в свою очередь обуславливает ее антикластогенный эффект.

Ключевые слова: гидрофильная криофракция селезенки крупного рогатого скота, микроядерный тест, активные формы кислорода, Эндоксан®, циклофосфамид, лабораторные мыши.

Благодарность: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-26-00034, <https://rscf.ru/project/24-26-00034/>

Влияние неблагоприятных факторов окружающей среды, а так же некоторые заболевания способны индуцировать повреждение генетического аппарата в клетках, что, в свою очередь, может инициировать развитие патологий в организме сельскохозяйственных животных и их потомства [1]. Введение веществ, обладающих антимуtagensным действием, способно снизить повреждение ДНК, хромосом и тем самым способствовать сохранению цитогенетической стабильности организма животных [2]. Препараты, изготовленные на основе гидрофильной криофракции селезенки крупного рогатого скота (ГКСК) обладают выраженным антиоксидантным действием, что делает их пер-

спективными фармацевтическими субстанциями с антимуtagensными свойствами [3].

Поэтому целью настоящей работы явилось исследование влияния гидрофильной криофракции селезенки крупного рогатого скота на цитогенетическую нестабильность, индуцированную циклофосфамидом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для проведения экспериментов были использованы белые лабораторные мыши ($n = 30$) массой тела $30,0 \pm 2,0$ г разведения вивария ФГБНУ «ВНИВИПФиТ». Подопытные животные содержа-

лись в стандартных условиях вивария (температура воздуха +18—23 °С, относительная влажность 45—60 %). Доступ к воде и корму был свободным. Все процедуры с животными, предусмотренные в исследовании, были предварительно рассмотрены и одобрены на заседании биоэтической комиссии ФГБНУ «ВНИВИПФиТ» до начала экспериментальной работы и соответствовали правилам, принятым в European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS123), Strasbourg, 1986, и «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств».

ГКСК была получена в лаборатории доклинических исследований и моделирования биологических систем ФГБНУ «ВНИВИПФиТ». В качестве экспериментального мутагена был использован препарат Эндоксан® (Baxter, Германия), действующим веществом которого является циклофосфамида моногидрат, образующий ковалентные связи с нуклеофильными соединениями и алкилирующий структурные элементы ДНК (пурины, пиримидины) [4].

Нами были сформированы отдельные группы экспериментальных животных. В группе негативного контроля (группа I) мыши получали трехкратную внутримышечную инъекцию 0,9 % хлорида натрия в объеме 0,1 мл с интервалом в 24 ч ($n = 6$). Животным из группы II однократно внутримышечно вводили ГКСК в дозе 0,5 мл/кг в объеме 0,1 мл ($n = 6$). Мышам из группы III вводили ГКСК аналогично животным из группы II и препарат Эндоксан® внутрибрюшинно в дозе 20 мг/кг в объеме 0,5 мл однократно ($n = 6$). Животные из группы IV получали ГКСК трехкратно с интервалом в 24 ч в дозе 0,5 мл/кг в объеме 0,1 мл и совместно с последней инъекцией Эндоксан® аналогично группе III ($n = 6$). Мышам из Группы V вводили Эндоксан® в дозе 20 мг/кг ($n = 6$). Через 24 ч после финальной инъекции мыши подвергались эвтаназии путем передозировки CO₂ в специальной камере, далее из бедренных костей животных получали суспензию клеток костного мозга. Определяли их концентрацию и жизнеспособность методом эксклюзии трипанового синего [4].

Из полученной суспензии клеток изготавливали препараты костного мозга для проведения микроядерного теста с окрашиванием по Паппенгейму. Микрорепараты изучали с помощью микроскопа Микромед-3 (Микромед, Китай) при увеличении $\times 1000$. Изучали частоту полихроматофильных эритроцитов с микроядрами (МЯПХЭ) и долю поли-

хроматофильных эритроцитов (ПХЭ) относительно нормохромных эритроцитов (НЭ) [5].

Также изучали относительное содержание внутриклеточных активных форм кислорода (АФК) с помощью флуоресцентного зонда — 2,7'-дихлордигидрофлуоресцеина диацетата. Для этого после инкубации суспензии клеток с зондом регистрировали относительную интенсивность флуоресценции окисленной этерифицированной формы зонда (DCF) с помощью спектрофлуориметра RF-5301 PC (Shimadzu, USA) [6]. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы STATISTICA10 (StatSoft, USA), используя U-критерий Манна — Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В ходе исследования нами была определена частота МЯПХЭ в костном мозге мышей, исследуемых групп (рис. 1). Введение ГКСК (группа II) не вызывало увеличения частоты МЯПХЭ в костном мозге мышей. В группе I и II частота МЯПХЭ составила $0,26 \pm 0,06$ и $0,30 \pm 0,07$ % соответственно.

Введение Эндоксана® индуцировало значимое увеличение частоты МЯПХЭ в группах III—V в 8; 4,4 и 8,9 раза, соответственно. Так в группе III она составила $2,07 \pm 0,31$ %. Курсовое применение ГКСК (группа IV) индуцировало снижение частоты МЯПХЭ на 50,43 % относительно животных, получавших только Эндоксан® (группа V). Так частота МЯПХЭ составила $1,15 \pm 0,14$ и $2,32 \pm 0,19$ % в группах IV и V, соответственно. Доля ПХЭ в костном мозге мышей исследуемых групп колебалась от 46 до 54 %, однако не имела статистически значимых отличий. Далее нами были изучены относительная интенсивность флуоресценции DCF в клетках костного мозга мышей исследуемых групп (рис. 2).

Интенсивность флуоресценции DCF клеток костного мозга, полученных от мышей группы негативного контроля (группа I) составляла $32,45 \pm 10,46$ отн. ед. В группах II и III интенсивность флуоресценции DCF составила $48,09 \pm 14,43$ и $108,96 \pm 33,57$ отн. ед., соответственно, и не имела значимых отличий от группы I. В тоже время интенсивность флуоресценции DCF в группе III статистически достоверно не отличалась от интенсивности DCF в группе V, которая составила $137,2 \pm 14,67$ отн. ед. При этом курсовое введение ГКСК (группа IV) индуцировало значимое снижение интенсивности флуоресценции DCF на 40,16 % до $82,10 \pm 10,05$ отн. ед. относительно показателя флуоресценции группы V.

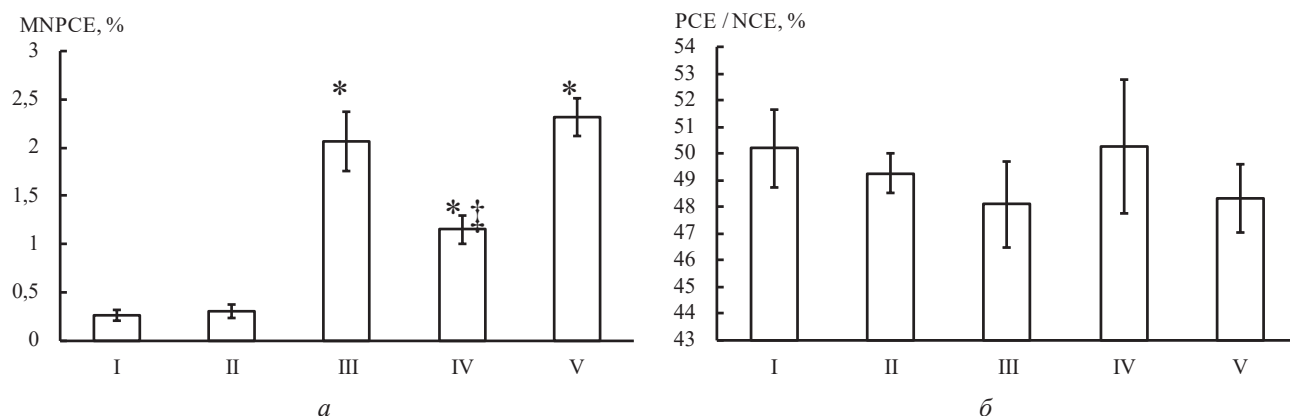


Рис. 1. Частота полихроматофильных эритроцитов с микроядрами (А) и доля полихроматофильных эритроцитов (Б) в костном мозге мышей, исследуемых групп:

MNPCE — частота полихроматофильных эритроцитов с микроядрами, %; PCE/NE — доля полихроматофильных эритроцитов относительно нормохромных эритроцитов, %; * — статистически значимое отличие от группы I ($p < 0,05$); ‡ — статистически значимое отличие от группы V ($p < 0,05$); $M \pm SE\%$ — среднее арифметическое \pm стандартная ошибка

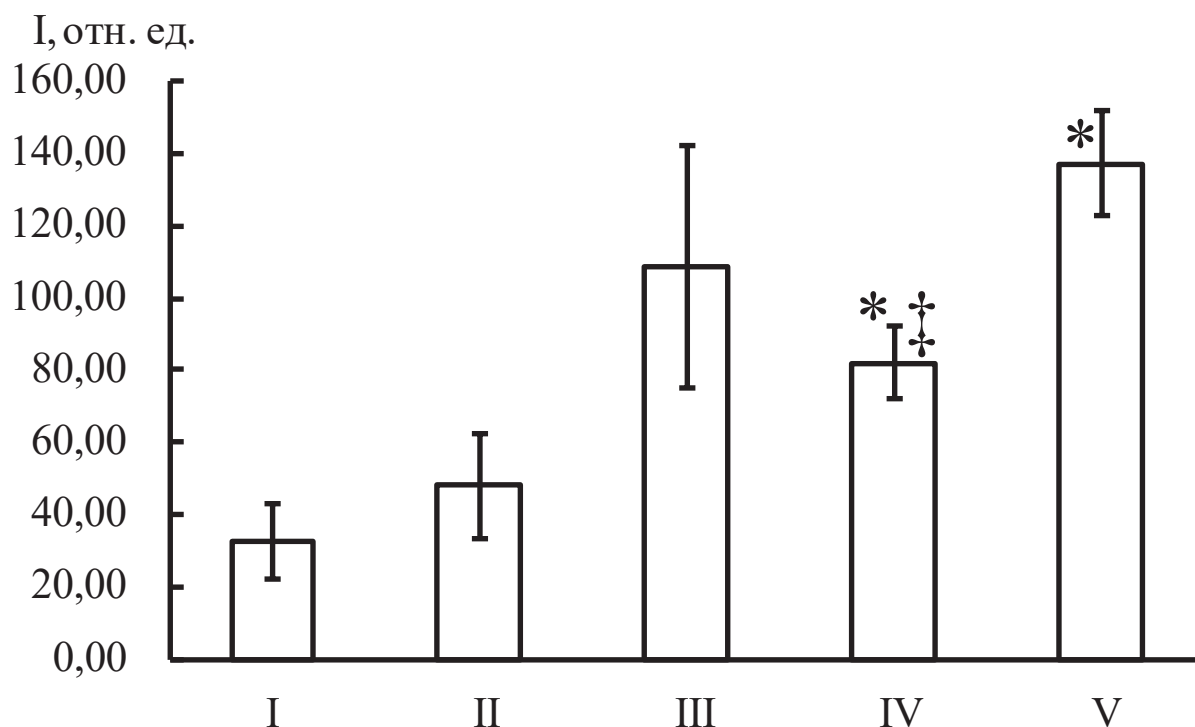


Рис. 2. Относительное содержание внутриклеточных АФК в клетках костного мозга мышей:

I—V — номера экспериментальных групп; I — Интенсивность флуоресценции DCF при длине волны 488 нм, отн. ед.; * — статистически значимое отличие от группы I ($p < 0,05$); ‡ — статистически значимое отличие от группы V ($p < 0,05$); $M \pm SE\%$ — среднее арифметическое \pm стандартная ошибка

Таким образом, трехкратное введение ГКСК снижало кластогенное воздействие циклофосфида на клетки, костного мозга, характеризующиеся высокой пролиферацией, что приводило к снижению частоты МЯПХЭ в костном мозге мышей [7]. Полученные нами данные согласуются с материалами исследований, которые демонстриру-

ют снижение повреждения ДНК в клетках животных, получавших экстракты тканей или органо-препараты [8, 9].

Увеличение интенсивности флуоресценции DCF в клетках костного мозга мышей при введении Эндоксана®, по всей видимости, происходило в связи с накоплением в них внутриклеточных АФК

в результате индуцированного циклофосфамидом свободнорадикального окисления в организме, которое является одной из причин цитогенетической нестабильности [6]. Курсовое введение ГКСК приводило к снижению внутриклеточных АФК, вероятно, за счет проявления антиоксидантного действия, что может выступать одним из механизмов выявленного нами антикластогенного эффекта.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, введение ГКСК не приводило к снижению цитогенетической стабильности. Индуцированное циклофосфамидом увеличение частоты МЯПХЭ и содержания внутриклеточных АФК в костном мозге мышей уменьшалось на 50,43 и 40,16 %, соответственно, при трехкратном введении ГКСК, что может свидетельствовать об антиоксидантом действии фармакологической субстанции, которое в свою очередь обуславливает ее антикластогенный эффект.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Jennings R. L., Griffin D. K., O'Connor R.E. A new Approach for Accurate Detection of Chromosome Rearrangements That Affect Fertility in Cattle // *Animals* (Basel). 2020. № 10 (1). P. 114. DOI 10.3390/ani10010114
2. Akram M., Riaz M., Wadood A. W. C., Hazrat A., Mukhtiar M., Ahmad Zakki, S., Zainab, R. Medicinal plants with anti-mutagenic potential // *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2020. № 34(1). P. 309—318. DOI 10.1080/13102818.2020.1749527

3. Шабунин С. В., Шахов А. Г., Востроилова Г. А., Паршин П. А., Ермолова Т. Г., Хохлова Н. А., Близначева Г. Н. Влияние аминоселетона на состояние прооксидантной и антиоксидантной систем крови у свиноматок // *Достижения науки и техники АПК*. 2019. № 33(7). С. 71—74. DOI 10.24411/0235-2451-2019-10716

4. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А. Н. Миронов [и др.]; ред. А. Н. Миронов. — М.: Гриф и К, 2012. Ч. 1. 944 с.

5. Hayashi M. The micronucleus test — most widely used in vivo genotoxicity test. *Genes and Environment*. 2016. № 38. P. 18. DOI 10.1186/s41021-016-0044-x

6. Deng J., Zhong Y. F., Wu Y. P., Luo Z., Sun Y. M., Wang G. E., Kurihara H., Li Y. F., He R. R. Carnosine attenuates cyclophosphamide-induced bone marrow suppression by reducing oxidative DNA damage // *Redox Biol*. 2018. № 14. P. 1—6. DOI 10.1016/j.redox.2017.08.003

7. Шабунин С. В., Востроилова Г. А., Паршин П. А., Шабанов Д. И., Хохлова Н. А. Антикластогенная активность аминоселетона при воздействии циклофосфамида на костный мозг мышей // *Сельскохозяйственная биология*. 2021. Т. 56, № 4. С. 763—771. DOI 10.15389/agrobiology.2021.4.763rus

8. Oh E., Jung W., Sul D. DNA damage and protective effects of placental extracts in blood lymphocytes and lymphoid organs of mice exposed to gamma irradiation // *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. 2023. № 16(2). P. 100—557. DOI 10.1016/j.jrras.2023.100557

9. Kawakatsu M., Urata Y., Goto S., Ono Y., Li T. S. Placental extract protects bone marrow-derived stem/progenitor cells against radiation injury through anti-inflammatory activity // *Journal of Radiation Research*. 2013. № 54(2). P. 268—276. DOI 10.1093/jrr/trs105

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ

Д. И. Шабанов — научный сотрудник.

Статья поступила в редакцию 01.10.2024.

Original article

UDC 619:615.36:575.224.46

STUDY OF CYTOGENETIC STABILITY OF MOUSE BONE MARROW USING HYDROPHILIC CRYOFRACTION OF BOVINE SPLEEN

Dmitriy Igorevich Shabanov

All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia, am7d@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1574-1317>

Abstract. One of the ways to maintain genome stability is the use of antimutagenic substances. Hydrophilic cryofraction of bovine spleen (HCBS) is a promising pharmaceutical substance with antimutagenic properties. Therefore, the objective of our work was to study the effect of HCBS on cytogenetic instability induced by cyclophosphamide. During the experiment, five groups of mice were formed, $n = 6$ in each one: a negative control group (group I); group II, the animals of which were administered HCBS intramuscularly at a dose of 0.5 ml/kg, and groups III—V, in which the animals were given an intraperitoneal injection of Endoxan® at a dose of 20 mg/kg. In this case, the mice of group III were given HCBS once before the mutagen injection, and the animals of group IV were given HCBS three times at an interval of 24 hours at a dose of 0.5 ml/kg. One day after the administration of Endoxan®, the animals were withdrawn from the experiment. Bone marrow preparations were obtained for the micronucleus test. The concentration of intracellular reactive oxygen species (ROS) in the bone marrow cells of mice was also studied using the fluorescent probe 2,7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate. The administration of HCBS did not lead to a decrease in cytogenetic stability. The cyclophosphamide-induced increase in the frequency of MNPCE and the content of intracellular ROS in the bone marrow of mice decreased by 50.4 and 40.2 % ($p < 0.05$), respectively, with three-fold administration of HCBS, which may indicate an antioxidant effect of the pharmacological substance, which in turn causes its anticlastogenic effect.

Keywords: hydrophilic cryofraction of bovine spleen, micronucleus test, reactive oxygen species, Endoxan®, cyclophosphamide, laboratory mice.

Acknowledgment: the study was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 24-26-00034, <https://rscf.ru/project/24-26-00034/>

The effect of unfavorable environmental factors, as well as some diseases, can induce damage to the genetic apparatus in cells, which in turn can initiate the development of pathologies in the body of farm animals and their offspring [1]. The introduction of substances with antimutagenic action can reduce damage to DNA, chromosomes and thereby help to maintain the cytogenetic stability of the animal body [2]. Preparations made from hydrophilic cryofraction of bovine spleen (HCBS) have a pronounced antioxidant effect, which makes them promising pharmaceutical substances with antimutagenic properties [3].

Therefore, the objective of this work was to study the effect of hydrophilic cryofraction of bovine spleen on cytogenetic instability induced by cyclophosphamide.

MATERIAL AND METHODS

The experiments were carried out on white laboratory mice ($n = 30$) weighing 30.0 ± 2.0 g bred in the vivarium of FSBSI "ARVRIPP&T". The experimental animals were kept under standard vivarium conditions (air temperature + 18—23 °C, relative humidity 45—60 %). Access to water and food was free. All procedures with animals provided for in the study were preliminarily reviewed and approved at a meeting of the Bioethics Commission of FSBSI "ARVRIPP&T" before the experimental work onset and complied with the rules adopted in the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS123), Strasbourg, 1986, and the Guidelines for Conducting Preclinical Studies of Medicinal Products.

HCBS was obtained in the Laboratory of Preclinical Studies and Simulation of Biological Systems of FSBSI “ARVRIPP&T”. The drug Endoxan® (Baxter, Germany) was used as an experimental mutagen. Its active substance is cyclophosphamide monohydrate, which forms covalent bonds with nucleophilic compounds and alkylates structural elements of DNA (purines, pyrimidines) [4].

We formed separate groups of experimental animals. In the negative control group (group I), the mice were given a three-fold intramuscular injection of 0.9 % sodium chloride in a volume of 0.1 ml with an interval of 24 hours ($n = 6$). The animals from group II were given a single intramuscular injection of HCBS at a dose of 0.5 ml/kg in a volume of 0.1 ml ($n = 6$). The mice from group III were given HCBS similarly to the animals from group II and the drug Endoxan® intraperitoneally at a dose of 20 mg/kg in a volume of 0.5 ml once ($n = 6$). The animals from group IV were given HCBS three times with an interval of 24 hours at a dose of 0.5 ml/kg in a volume of 0.1 ml and together with the last injection of Endoxan® similarly to group III ($n = 6$). The mice from group V were given Endoxan® at a dose of 20 mg/kg ($n = 6$).

Twenty-four hours after the final injection, the mice were euthanized by CO₂ overdose in a special chamber, and a suspension of bone marrow cells was obtained from the animals’ femurs. Their concentration and viability were determined by the trypan blue exclusion assay [4].

Bone marrow preparations/microslides were made from the obtained cell suspension to perform the micronucleus assay with Pappenheim’s staining. The microslides were studied using a Micromed-3 micro-

scope (Micromed, China) at a magnification of $\times 1000$. The frequency of micronucleated polychromatophilic erythrocytes (MNPCE) and the proportion of polychromatophilic erythrocytes (PCE) relative to normochromic erythrocytes (NCE) were studied [5].

The relative content of intracellular reactive oxygen species (ROS) was also studied using a fluorescent probe, 2,7’-dichlorodihydrofluorescein diacetate. For this purpose, after incubation of the cell suspension with the probe, the relative fluorescence intensity of the oxidized esterified form of the probe (DCF) was recorded using an RF-5301 PC spectrofluorimeter (Shimadzu, USA) [6].

Statistical processing of the obtained data was performed with the STATISTICA10 program (StatSoft, USA), using the Mann — Whitney U-test.

STUDY RESULTS

During the study, we determined the frequency of MNPCE in the bone marrow of mice in the studied groups (Fig. 1). The administration of HCBS (group II) did not cause an increase in the frequency of MNPCE in the bone marrow of mice. In groups I and II, the frequency of MNPCE was 0.26 ± 0.06 and 0.30 ± 0.07 %, respectively.

The administration of Endoxan® induced a significant increase in the frequency of MNPCE in groups III—V by 8, 4.4 and 8.9 times, respectively. Thus, in group III it was 2.07 ± 0.31 %. The course application of HCBS (group IV) induced a decrease in the frequency of MNPCE by 50.43 %, relative to the animals who were administered only Endoxan® (group V). Thus, the frequency of MNPCE was 1.15 ± 0.14 and 2.32 ± 0.19 % in groups IV and V, respectively.

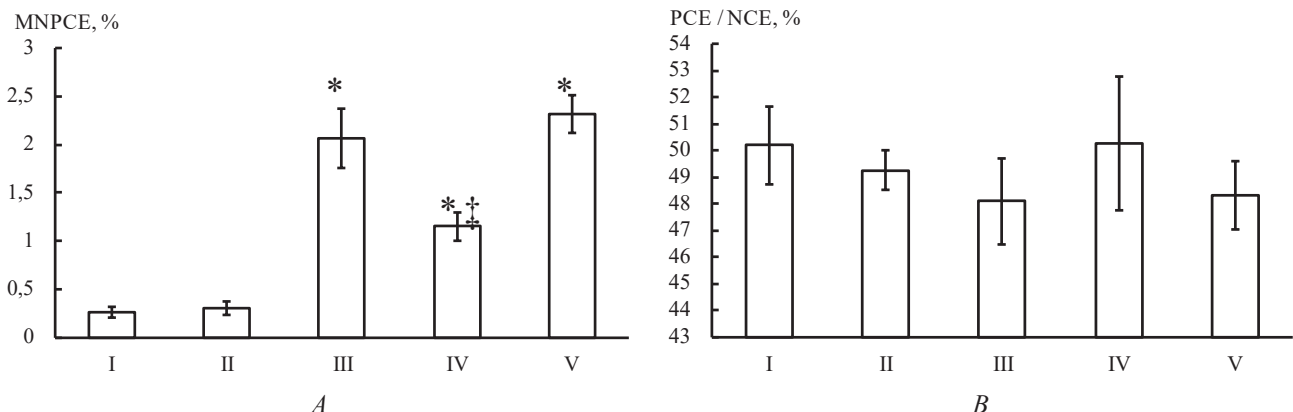


Fig. 1. Frequency of micronucleated polychromatophilic erythrocytes (A) and proportion of polychromatophilic erythrocytes (B) in the bone marrow of mice in the studied groups:

MNPCE — frequency of micronucleated polychromatophilic erythrocytes, %; PCE/NCE — proportion of polychromatophilic erythrocytes relative to normochromic erythrocytes, %; * statistically significant difference from group I ($p < 0.05$); ‡ — statistically significant difference from group V ($p < 0.05$); $M \pm SE\%$ — arithmetic mean \pm standard error

The proportion of PCE in the bone marrow of mice in the studied groups ranged from 46 to 54 %, but had no statistically significant differences.

Then we studied the relative intensity of DCF fluorescence in the bone marrow cells of mice in the studied groups (Fig. 2).

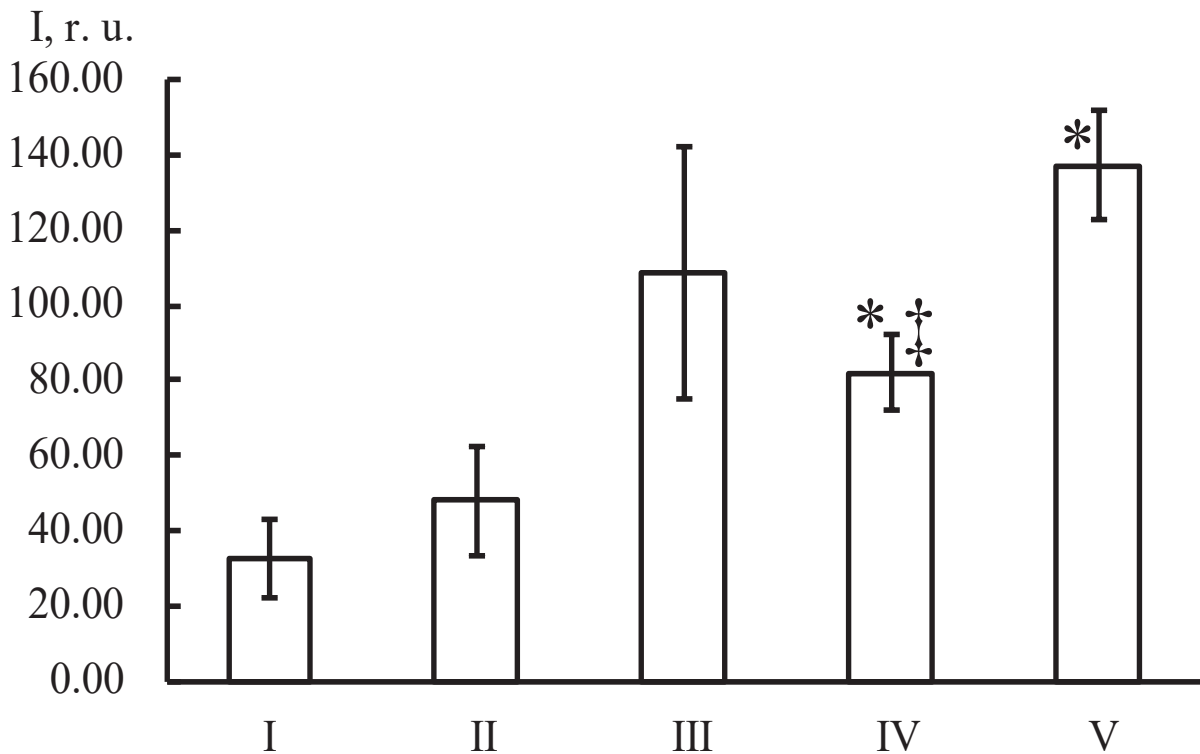


Fig. 2. Relative content of intracellular ROS in mouse bone marrow cells:

I—V — numbers of experimental groups; I — DCF fluorescence intensity at a wavelength of 488 nm, r. u.; * statistically significant difference from group I ($p < 0.05$); ‡ — statistically significant difference from group V ($p < 0.05$); $M \pm SE\%$ — arithmetic mean \pm standard error.

The fluorescence intensity of DCF in bone marrow cells obtained from the mice of the negative control group (group I) was 32.45 ± 10.46 r. u. In groups II and III, the DCF fluorescence intensity was 48.09 ± 14.43 and 108.96 ± 33.57 r. u., respectively, and did not differ significantly from group I. At the same time, the fluorescence intensity of DCF in group III did not statistically significantly differ from the DCF intensity in group V, which was 137.2 ± 14.67 r. u. At the same time, the course administration of HCBS (group IV) induced a significant decrease in the fluorescence intensity of DCF by 40.16 % to 82.10 ± 10.05 r. u., relative to the group V fluorescence index.

Thus, three-fold administration of HCBS reduced the clastogenic effect of cyclophosphamide on bone marrow cells characterized by high proliferation, which led to a decrease in the frequency of MNPCE in the bone marrow of mice [7]. Our data are consistent with the material of studies that demonstrate a decrease in DNA damage in the cells of animals given tissue extracts or organ preparations [8, 9]. An increase

in the intensity of DCF fluorescence in bone marrow cells of mice upon administration of Endoxan®, most likely occurred due to the accumulation of intracellular ROS in them as a result of cyclophosphamide-induced free radical oxidation in the body, which is one of the causes of cytogenetic instability [6]. A course of HCBS led to a decrease in intracellular ROS, probably due to the manifestation of an antioxidant effect, which may be one of the mechanisms of the anticlastogenic effect we identified.

CONCLUSION

Thus, the administration of HCBS did not lead to a decrease in cytogenetic stability. The cyclophosphamide-induced increase in the frequency of MNPCE and the content of intracellular ROS in the bone marrow of mice decreased by 50.43 and 40.16 %, respectively, with a three-fold introduction of HCBS, which may indicate an antioxidant effect of the pharmacological substance, which in turn determines its anticlastogenic effect.

REFERENCES

1. Jennings R. L., Griffin D. K., O'Connor R.E. A new Approach for Accurate Detection of Chromosome Rearrangements That Affect Fertility in Cattle // *Animals (Basel)*. 2020. No. 10 (1). P. 114. DOI 10.3390/ani10010114
2. Akram M., Riaz M., Wadood A. W. C., Hazrat A., Mukhtiar M., Ahmad Zakki, S., Zainab, R. Medicinal plants with anti-mutagenic potential // *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2020. No. 34(1). P. 309—318. DOI 10.1080/13102818.2020.1749527
3. Shabunin S. V., Shakhov A. G., Vostroilova G. A., Parshin P. A., Ermolova T. G., Khokhlova N. A., Bliznetsova G. N. Effect of aminoseleton on the state of the prooxidant and antioxidant blood systems in sows // *Dostizheniya nauki i tekhniki APK (Achievements of science and technology of the agroindustrial complex)*. 2019. No. 33(7). P. 71—74. DOI 10.24411/0235-2451-2019-10716
4. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs / A. N. Mironov [et al.]; ed. A. N. Mironov. — M.: Grif i K, 2012. Part 1. 944 p.
5. Hayashi M. The micronucleus test — most widely used in vivo genotoxicity test. *Genes and Environment*. 2016. No. 38. P. 18. DOI 10.1186/s41021-016-0044-x
6. Deng J., Zhong Y. F., Wu Y. P., Luo Z., Sun Y. M., Wang G. E., Kurihara H., Li Y. F., He R. R. Carnosine attenuates cyclophosphamide-induced bone marrow suppression by reducing oxidative DNA damage // *Redox Biol*. 2018. No. 14. P. 1—6. DOI 10.1016/j.redox.2017.08.003
7. Shabunin S. V., Vostroilova G. A., Parshin P. A., Shabanov D. I., Khokhlova N. A. Anticlastogenic activity of aminoseleton under the effect of cyclophosphamide on the bone marrow of mice // *Selskokhozyaystvennaya biologiya (Agricultural Biology)*. 2021. Vol. 56, No. 4. P. 763—771. DOI 10.15389/agrobiology.2021.4.763rus
8. Oh E., Jung W., Sul D. DNA damage and protective effects of placental extracts in blood lymphocytes and lymphoid organs of mice exposed to gamma irradiation // *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. 2023. No. 16(2). P. 100—557. DOI 10.1016/j.jrras.2023.100557
9. Kawakatsu M., Urata Y., Goto S., Ono Y., Li T. S. Placental extract protects bone marrow-derived stem/progenitor cells against radiation injury through anti-inflammatory activity // *Journal of Radiation Research*. 2013. No. 54(2). P. 268—276. DOI 10.1093/jrr/rrs105

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

D. I. Shabanov — Scientific Associate.

The article was submitted 01.10.2024.

Научная статья

УДК 615.035/619:616.1/636.74.044.7

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2024.4.44

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ АССОРТИМЕНТА ПРЕПАРАТОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА У СОБАК

Абдулмуталип Магаметович Сампиев*, Марина Петровна Семененко**,
Татьяна Евгеньевна Онбыш***, Ксения Андреевна Железнякова****

*Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии, Краснодар, Россия;
Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал ФГБОУ ВО ВолГМУ
Минздрава России, Пятигорск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5100-2239>

**Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии, Краснодар,
Россия, sever291@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8266-5900>

***Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии,
Краснодар, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1390-0484>

****Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии,
Краснодар, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9407-0768>

Аннотация. В статье приведены результаты исследования структуры ассортимента разрешенных к ветеринарному применению на территории России лекарственных средств, предназначенных для профилактики и лечения болезней опорно-двигательного аппарата (ОДА) у собак. Общий анализ структуры Государственного реестра ветеринарных препаратов показал, что по состоянию на сентябрь 2024 года в него внесены 2347 средств, из которых 61 % составляют импортные позиции, а 39 %, соответственно, отечественные. При этом доля препаратов для лечения заболеваний ОДА у собак, к общему числу зарегистрированных в реестре, составляет 4 %. Большую часть ассортимента последних занимают анальгетики (43 %), антибиотики (30 %), НПВС (17 %), кортикостероиды (8 %) и корректоры метаболизма костной ткани (2 %). При оценке отдельной, но стратегически важной для ветеринарии препаратов из группы модуляторов метаболизма костной ткани, установлен крайне ограниченный их ассортимент (всего 2 отечественных препарата). По итогам контент-анализа ассортимента препаратов, используемых для профилактики и фармакотерапии болезней ОДА у собак, выявлено значительное преобладание доли импортных средств над отечественными. Это и другие выявленные обстоятельства обосновывают необходимость расширения сегмента лекарственного обеспечения в ветеринарной медицине препаратами соответствующих фармакотерапевтических групп российского производства.

Ключевые слова: Государственный реестр, ветеринарные препараты, структура ассортимента, метод контент-анализа, производители лекарственных средств, формы выпуска.

Государственный реестр лекарственных средств для ветеринарного применения представляет собой перечень разрешенных для применения на территории Российской Федерации отечественных и зарубежных препаратов, а также профилактических и диагностических средств, зарегистрированных в установленном порядке Федеральной службой по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор). В Реестре содержатся

данные о торговых и международных непатентованных названиях, производителях, лекарственных формах, фармакологических группах, составе лекарственных средств и датах их регистрации [1—4]. Государственный Реестр лекарственных средств для ветеринарного применения является официальным изданием, которым руководствуются не только ветеринарные работники в своей повседневной практике, но и все надзорно-контроли-

рующие структуры, регулирующие сферу обращения лекарственных препаратов.

Одной из задач фармацевтической отрасли является оценка состояния и развития различных сегментов рынка ветеринарных препаратов, а также отслеживание ситуации с ассортиментом той или иной фармакотерапевтической группы. В этом связи, мониторинг препаратов для лечения заболеваний ОДА, особенно, у собак, для их последующего создания и внедрения в производство, является важным звеном работы ветеринарной фармацевтической промышленности [5, 6, 7, 15].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для проведения исследования структуры ассортимента ветеринарных препаратов, применяемых для профилактики и лечения заболеваний ОДА у собак, использовался метод контент-анализа, справочник «VIDAL ветеринария», инструкции по применению ветеринарных препаратов, ма-

териалы Государственного реестра лекарственных средств [1, 4].

Структурирование и анализ ассортимента лекарственных препаратов для лечения ОДА у собак осуществлялось по компаниям-производителям, формам выпуска или лекарственным формам, фармакотерапевтическим группам. В исследовании были использованы аналитические, статистические и графические методы исследования [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Согласно сведениям Государственного реестра лекарственных средств (ГРЛС) для ветеринарного применения по состоянию на сентябрь 2024 г. в России весь ассортимент лекарственных средств для ветеринарного применения представлен 2347 позициями, из которых 908 позиций — препараты отечественного производства (рис. 1) [4]. Установлено, что доля импортных препаратов преобладает над отечественными (61 % против 39 %) (рис. 1) [15].



Рис. 1. Распределение зарегистрированных в РФ ветеринарных препаратов по отечественному и зарубежному производству, %

В ходе проведенного контент-анализа было установлено, что на долю препаратов, применяемых при заболеваниях ОДА у собак, приходится 4 % (90 препаратов) от общего количества, внесенных в реестр (рис. 2), что свидетельствует о необходимости расширения ассортимента лекарственных препаратов данной группы, учитывая широкое распространение таких патологий у собак как дисплазии, вывихи, переломы, аномалии развития суставов, воспалительные заболевания суставов, синовиты, артриты и артрозы [8—11].

В настоящее время на ветеринарном рынке препараты, применяемые при заболеваниях ОДА, делятся на две основные группы: быстродействующие и медленнодействующие симптом-модифицирующие. К первой группе относятся нестероидные противовоспалительные лекарственные средства (НПВС), анальгетики (простые и опио-

идные), миорелаксанты, а также глюкокортикоиды. Среди препаратов второй группы (симптом-модифицирующие препараты замедленного действия) первостепенная роль принадлежит естественным компонентам хрящевого матрикса — глюкозамин, хондроитин, неденатурированная форма коллагена II типа [11, 12]. Что касается области применения и основных фармакотерапевтических групп, большую часть ветеринарных препаратов для лечения ОДА у собак, зарегистрированных в реестре, занимают анальгетики, в том числе опиоидные ненаркотические анальгетики и прочие ненаркотические анальгетики — 43 % (что видимо коррелирует с наличием выраженного болевого синдрома, как основного симптома при заболеваниях ОДА). Затем следуют антибиотики (30 %), НПВС (17 %), кортикостероиды (8 %) и корректоры метаболизма костной ткани (2 %) (рис. 3) [15].

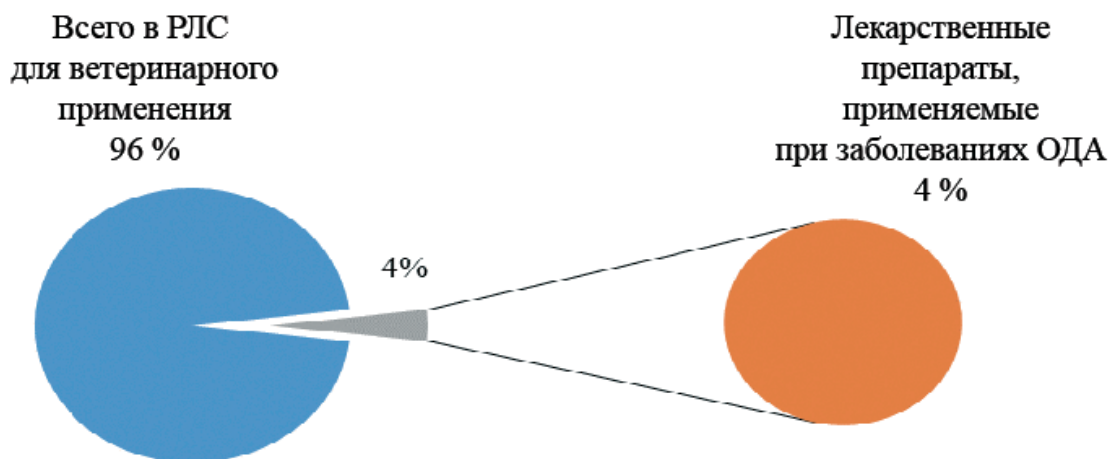


Рис. 2. Доля зарегистрированных в РФ ветеринарных препаратов для лечения ОДА, %

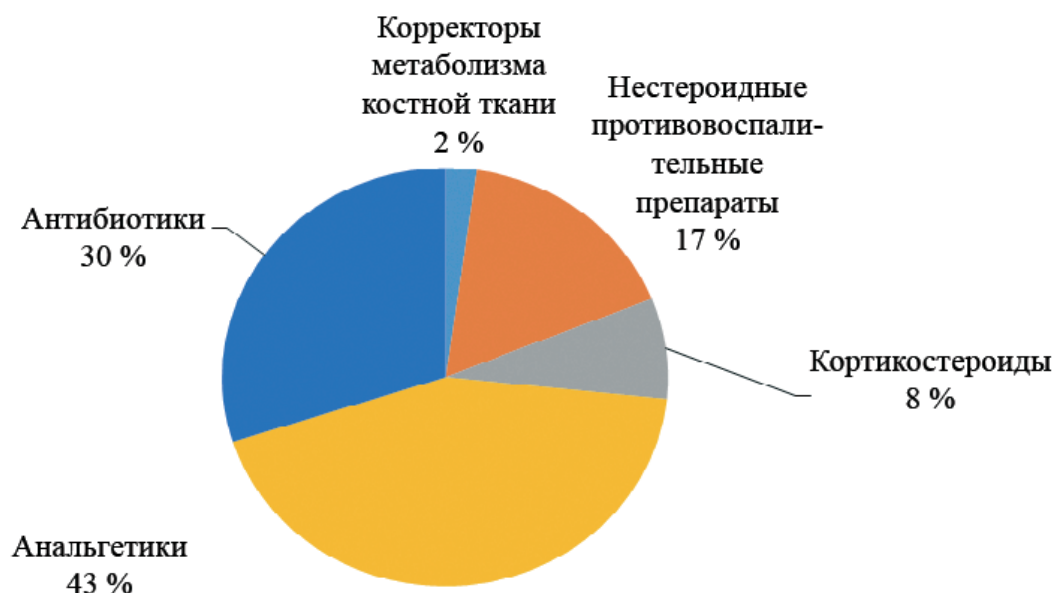


Рис. 3. Распределение ветеринарных препаратов для лечения ОДА по основным фармакотерапевтическим группам, %

Из 39 препаратов группы анальгетиков 9 позиций являются отечественными, что составляет 23,1 %, и 30 — зарубежными (76,9 %).

При этом анальгетики представляют весьма широкую группу по форме выпуска, доминирующей в которой является «раствор для инъекций» — более 46 % к общему числу препаратов (табл. 1).

Проанализировав группу «антибактериальные средства», мы выявили, что в реестре ветеринарных препаратов они представлены: фторхинолонами, полипептидными антибиотиками, макролидами, ионофорными кокцидиостатиками, тетрацикли-

нами, пенициллинами и др. Препараты российского производства составляют 22,2 % [8]. Важно отметить, что препараты безрецептурного отпуска включают 26 позиций (96,3 % от общего числа антибиотиков для лечения заболеваний ОДА у собак).

Данные, представленные в таблице 2 демонстрируют разнообразие форм выпуска антибиотиков в реестре ветеринарных препаратов для лечения заболеваний ОДА у собак. Наиболее предпочтительной формой является раствор для орального применения — 20 % к общему числу антибактериальных препаратов.

Таблица 1

Распределение анальгетиков для лечения ОДА по форме выпуска

№ п/п	Форма выпуска	Количество, ед.	Доля к общему числу препаратов, %
1.	Гель для наружного применения	1	2,6
2.	Линимент для наружного применения	1	2,6
3.	Мазь для наружного применения	1	2,6
4.	Порошок для орального введения	1	2,6
5.	Р-р для в/м введения	1	2,6
6.	Р-р для инъекций	18	46,1
7.	Р-р для орального применения	2	5,1
8.	Р-р для перорального применения	1	2,6
9.	Суспензия для орального применения	2	5,1
10.	Таблетки для орального применения	2	5,1
11.	Таблетки для перорального применения	6	15,3
12.	Таблетки для приема внутрь	2	5,1
13.	Таблетки кишечнорастворимые	1	2,6

Таблица 2

Распределение антибиотиков для лечения ОДА по форме выпуска

№ п/п	Форма выпуска	Количество, ед.	Доля к общему числу препаратов, %
1	2	3	4
1.	Водорастворимые гранулы для орального применения	1	3,7
2.	Гранулы для орального применения	1	3,7
3.	Гранулы для приготовления раствора для приема внутрь	1	3,7
4.	Пластина ветеринарная	1	3,7
5.	Порошок для наружного применения и приема внутрь	1	3,7
6.	Порошок для орального применения	3	11,1
7.	Порошок для перорального применения	2	7,4
8.	Порошок для приема внутрь	1	3,7
9.	Раствор для аурикулярного применения	1	3,7
10.	Раствор для внутриматочного введения	1	3,7

Окончание табл. 2

1	2	3	4
11.	Раствор для инъекций	1	3,7
12.	Раствор для орального применения	6	22,3
13.	Раствор для орального применения	2	7,4
14.	Суспензия для инъекций	2	7,4
15.	Суспензия для местного применения (капли ушные)	1	3,7
16.	Суспензия для орального применения	1	3,7
17.	Таблетки для приема внутрь	1	3,7

Нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) являются часто используемыми фармакологическими средствами для снятия воспаления и боли при заболеваниях ОДА. Несмотря на свою эффективность в уменьшении боли, связанной, например, с остеоартритом, эти препараты не оказывают влияния на главное патогенетическое звено остеоартроза — разрушение хряща. Более того, НПВС при длительном применении, могут оказать негативное влияние на желудочно-кишечный тракт (например, привести к язве же-

лудка и двенадцатиперстной кишки), почечную систему (например, вызвать острую почечную недостаточность) и печень (например, возможно повышение активности ферментов) у животных, подвергающихся краткосрочному и длительному лечению [13, 14].

В отличие от предыдущих групп, НПВС в большинстве своем представлены препаратами российского производства — 86,7 %. Однако, формы выпуска НПВС не отличаются разнообразием (табл. 3).

Таблица 3

Распределение НПВС для лечения ОДА по форме выпуска

№ п/п	Форма выпуска	Количество, ед.	Доля к общему числу нестероидных противовоспалительных препаратов, %
1.	Раствор для инъекций	11	73,3
2.	Таблетки для перорального применения (жевательные)	1	6,7
3.	Таблетки для приема внутрь	3	20,0

Кортикостероиды — эффективные средства для купирования симптомов артроза и других заболеваний, сопровождающихся воспалением. Пероральные, местные, внутривенные или внутримышечные — кортикостероиды быстро снимают воспаление, уменьшают боль. В реестре ветеринарных препаратов кортикостероиды представлены 7 препаратами, из них 4 — российского производства.

В реестре ветеринарных препаратов в группу кортикостероидов, предназначенных для лечения ОДА у собак, входит поликомпонентный препарат в форме таблеток для жевания, который включает в себя, наряду с кортикостероидом, витамины, витаминоподобные вещества и метаболиты, в частности, никотинамид, пиридоксин и метионин) (табл. 4).

Таблица 4

Распределение кортикостероидов для лечения ОДА по форме выпуска

№ п/п	Форма выпуска	Количество, ед.	Доля к общему числу препаратов кортикостероидов %
1.	Раствор для инъекций	3	42,8
2.	Раствор для наружного применения	1	14,3
3.	Суспензия для инъекций	1	14,3
4.	Таблетки для приема внутрь	1	14,3
5.	Таблетки жевательные	1	14,3

Среди препаратов для лечения заболеваний ОДА важная роль принадлежит естественным компонентам хрящевого матрикса — глюкозамину, хондроитину, неденатурированной форме коллагена II типа [11].

Самый узкий ассортимент лекарственных средств отмечен в группе «корректоры метаболизма костной ткани» — в реестре ветеринарных препаратов представлено всего два препарата российского производства: Гиалувит Хондро — раствор для инъекций; Алезан — крем для суставов.

Полученные результаты свидетельствуют о необходимости поиска фармакологически активных веществ, положительно влияющих на синтез соединительной ткани, ингибирующих процессы деградации костей и хряща, а также активирующих их восстановление, с целью расширения ассортимента лекарственных средств в ветеринарной практике.

Учитывая, что нарушения ОДА у собак включают несколько заболеваний с неоднородной этиологией, но с близкими биолого-морфологическими и клиническими результатами, в которых отмечается вовлеченность в патологический процесс не только хрящевой ткани, но и практически всех составляющих суставного органа, для нивелирования боли и замедления развития болезней ОДА необходим новый подход с использованием комбинированной терапии и разработкой мультимодальных комплексных лекарственных средств.

Выводы. Таким образом, проведенное исследование структуры ассортимента зарегистрированных в РФ для профилактики и лечения заболеваний ОДА препаратов позволило установить, что:

Основными препаратами при заболеваниях опорно-двигательного аппарата являются хондропротекторы, нестероидные противовоспалитель-

ные препараты (НПВС), кортикостероиды, анальгетики, антибиотики.

По результатам исследования было выявлено, что в сентябре 2024 года в Государственный реестр ветеринарных препаратов было включено 2347 препаратов с преобладанием доли импортных препаратов над отечественными (61 % против 39 %). При этом доля препаратов для лечения заболеваний опорно-двигательного аппарата (ОДА) в ветеринарной практике, к общему числу зарегистрированных в реестре, составляет 4 %.

Среди препаратов для лечения заболеваний ОДА у собак большую часть ассортимента занимают анальгетики (43 %), антибиотики (30 %), НПВС (17 %), кортикостероиды (8 %) и корректоры метаболизма костной ткани (2 %).

При оценке группы корректоров метаболизма костной ткани, установлено, что она имеет самый узкий ассортимент и представлена в Реестре только двумя препаратами российского производства, что свидетельствует о необходимости расширения линейки данной группы, учитывая широкое распространение патологий ОДА у собак.

Значительное преобладание импортных ветеринарных препаратов для лечения заболеваний ОДА у собак над отечественными как в целом, так и в разрезе отдельных значимых групп, говорит о необходимости расширения сегмента лекарственного обеспечения в ветеринарной медицине препаратами российского производства.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Жетписова Д. Р. Анализ лекарственных средств для птицеводства / Д. Р. Жетписова, Т. В. Бойко // Вестник ОмГАУ. — 2021. — № 4 (44). — С. 123—130.

2. Парфенюк А. А. Актуальность разработки комбинированного ранозаживляющего препарата для ветери-

нарного применения и его перспективный компонентный состав / А. А. Парфенюк, А. М. Сампиев, М. П. Семенов, К. А. Семенов // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2023. — № 2(23). — С. 76—90.

3. *Глаголев С. В.* Российский фармаконадзор в условиях нового регулирования — итоги двух лет и перспективы / С. В. Глаголев, К. В. Горелов, Д. А. Чижова // Ремедиум: журнал о российском рынке лекарств и медицинской технике. — 2019. — № 8. — С. 8—13.

4. *Государственный реестр* лекарственных средств для ветеринарного применения. — URL: <https://fsvps.gov.ru/fsvps/regLicensing/registration/registrationReestr.html> (дата обращения: 22.07.2024). — Текст: электронный.

5. *Бирюкова Н. П.* Организация службы мониторинга безопасности лекарственных препаратов для ветеринарного применения в организациях разработчиках (держателях регистрационных удостоверений или в организациях-производителях лекарственных средств) / Н. П. Бирюкова, В. В. Христенко, П. С. Лобова // Ветеринарный врач. — 2019. — № 6. — С. 15—22.

6. *Дельцов А. А.* Маркетинговые исследования ассортимента ветеринарных аптечных организаций / А. А. Дельцов, И. В. Косова // Фармация и фармакология. — 2015. — № 5(12). — С. 31—36.

7. *Косенко В. В.* Анализ ассортимента лекарственных средств, разрешенных к медицинскому применению в Российской Федерации / В. В. Косенко, Р. И. Ягудина, О. А. Леднев, В. Г. Серпик // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. — 2022. — Т. 12. — № 1. — С. 79—89.

8. *Черкасова В. В.* Организационно-методические подходы к оптимизации лекарственного обеспечения ветеринарных аптечных организаций и ветеринарных клиник на примере Тюменской области: дисс. ... кандидата фармацевтических наук: 3.4.3. / Черкасова Виктория Владимировна, Тюмень, 2022. — 270 с.

9. *Алексеева Л. И.* Остеоартроз: из прошлого в будущее / Л. И. Алексеева, Е. С. Цветкова // Науч.-практ. ревматология. — 2009. — № 2, прил. — С. 31—37.

10. *Сергеев В. Н.* Обоснование состава лечебно-профилактических рационов питания при заболеваниях опорно-двигательного аппарата / В. Н. Сергеев // Вестник восстановительной медицины. — 2019. — № 2 (90). — С. 58—65.

11. *Bruyere O.* An updated algorithm recommendation for the management of knee osteoarthritis from the European Society for Clinical and Economic Aspects of osteoporosis, osteoarthritis and musculoskeletal diseases (ESCEO) / O. Bruyere, G. Honvo, N. Veronese // Semin Arthritis Rheum. — 2019; 49(3):337—50.

12. *Косарев В. В.* Эффективность современных хондропротекторов при остеоартрозе / В. В. Косарев, С. А. Бабанов // Медицинский совет. — 2014. — № 5. — С. 92—99.

13. *Лила А. М. А.* Резолюция совета экспертов «Итоги многоцентрового рандомизированного двойного слепого плацебо-контролируемого исследования Артнео у пациентов с первичным остеоартритом коленного сустава II—III стадии / М. Лила., Л. И. Алексеева, И. Б. Беляева [и др.] // Современная ревматология. — 2023. — Т. 17. — № 6. — С. 136—142.

14. *Haupt R.* Critical discussion of the current environmental risk assessment (ERA) of veterinary medicinal products (VMPs) in the European Union, considering changes in animal husbandry / R. Haupt, C. Heinemann, J. J. Hayer et al. // Environmental Sciences Europe. — 2021. — V. 33. — P. 1—21.

15. *Семенов К. А.* Контент-анализ ассортимента лекарственных препаратов для профилактики и лечения заболеваний крупного рогатого скота / К. А. Семенов, А. М. Сампиев, М. П. Семенов, О. И. Василиади // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2024. — № 2 (27). — С. 64—79.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

А. М. Сампиев — доктор фармацевтических наук, профессор, ведущий научный сотрудник, профессор кафедры фармации;

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

Т. Е. Онбыш — кандидат фармацевтических наук, соискатель;

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

Статья поступила в редакцию 17.10.2024.

STUDY OF THE ASSORTMENT STRUCTURE OF
THE DRUGS USED FOR THE TREATMENT OF THE
MUSCULOSKELETAL SYSTEM DISEASES IN DOGS

Abdulmutalip Magametovich Sampiev*, Marina Petrovna Semenenko**,
Tatyana Evgenyevna Onbysh***, Kseniya Andreevna Zheleznyakova****

*Krasnodar Research Center for Zootechnics and Veterinary Medicine, Krasnodar, Russian Federation;
Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute — branch of the FSBEI HEVolsMU of the Ministry
of Health of the Russian Federation, Pyatigorsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5100-2239>

**Krasnodar Research Center for Zootechnics and Veterinary Medicine, Krasnodar,
Russia, sever291@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8266-5900>

***Krasnodar Research Center for Zootechnics and Veterinary Medicine,
Krasnodar, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1390-0484>

****Krasnodar Research Center for Zootechnics and Veterinary Medicine,
Krasnodar, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9407-0768>

Abstract. The article presents the results of a study of the assortment structure of the drugs approved for veterinary use in Russia, intended for the prevention and treatment of musculoskeletal diseases (MSD) in dogs. A general analysis of the structure of the State Register of Veterinary Drugs showed that as of September 2024, 2347 drugs were included in it, 61 % of which were imported items, and 39 % — domestic. At the same time, the share of drugs for the treatment of MSD in dogs is 4 % to the total number of drugs in the register. Most of the assortment of the latter is occupied by analgesics (43 %), antibiotics (30 %), NSAIDs (17 %), corticosteroids (8 %) and bone tissue metabolism correctors (2 %). When assessing the drugs from the group of bone metabolism modulators, which are strategically important for veterinary medicine, there was established their extremely limited assortment (only 2 domestic drugs). The results of the content analysis of the assortment of the drugs used for the prevention and pharmacotherapy of MSD in dogs revealed a significant predominance of the share of imported drugs over domestic ones. This and other identified circumstances justify the need to expand the segment of drug provision in veterinary medicine with the drugs of the corresponding pharmacotherapeutic groups of Russian production.

Keywords: State Register, veterinary drugs, assortment structure, content analysis method, drug manufacturers, drug forms

The State Register of Veterinary Drugs is a list of domestic and foreign drugs, as well as preventive and diagnostic agents, approved for use in the Russian Federation, registered in accordance with the established procedure by the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance (Rosselkhozadzor). The Register contains the data on trade and international non-proprietary names, manufacturers, dosage forms, pharmacological groups, formulas and dates of their registration [1—4]. The State Register of Veterinary Drugs is an official publication used not only by veterinarians in their daily practice, but also

by all supervisory and control structures regulating the circulation of drugs.

One of the tasks of the pharmaceutical industry is to assess the state and development of various segments of the veterinary drug market, as well as to monitor the situation with the assortment of a particular pharmacotherapeutic group.

In this regard, monitoring of drugs for the treatment of MSD, especially in dogs, for their subsequent design and introduction into production, is an important link in the work of the veterinary pharmaceutical industry [5, 6, 7, 15].

MATERIAL AND METHODS

To conduct a study of the assortment structure of the veterinary drugs used for the prevention and treatment of MSD in dogs, the method of content analysis, the reference book VIDAL Veterinary Medicine, instructions for the use of veterinary drugs, material of the State Register of Veterinary Drugs [1, 4] were used. The structuring and analysis of the assortment of drugs for the treatment of MSD in dogs was carried out by manufacturing companies, drug forms or dos-

age forms, pharmacotherapeutic groups. Analytical, statistical and graphical research methods were used in the study [15].

STUDY RESULTS

According to the data of the State Register of Veterinary Drugs (SRVD) as of September 2024, in Russia the entire assortment of drugs for veterinary use is represented by 2347 items, 908 items of which are domestically produced drugs (Fig. 1) [4].



Fig. 1. Distribution of veterinary drugs registered in the Russian Federation by domestic and foreign production, %

It has been found that the share of imported drugs prevails over domestic ones (61 % versus 39 %) (Fig. 1) [15].

During the content analysis, it has been established that the share of drugs used for MSD in dogs accounts for 4 % (90 drugs) of the total number included in the

register (Fig. 2), which indicates the need to expand the assortment of drugs in this group, considering widespread occurrence of such pathologies as dysplasia, dislocations, fractures, joint developmental abnormalities, inflammatory joint diseases, synovitis, arthritis and arthrosis in dogs [8—11].

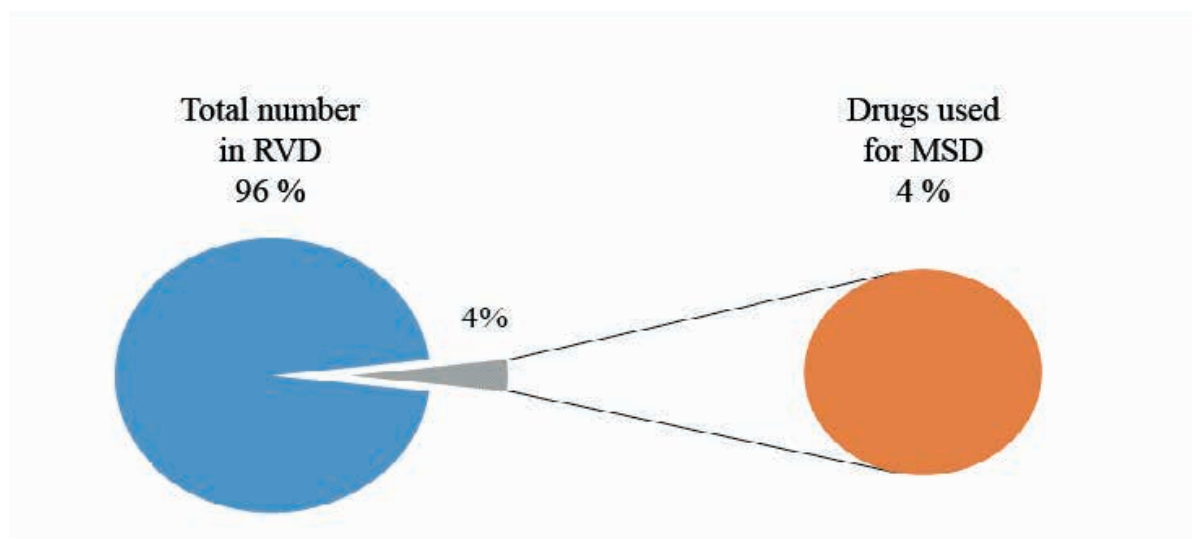


Fig. 2. Share of veterinary drugs registered in the Russian Federation for the treatment of MSD, %

Currently, on the veterinary market, drugs used for MSD are divided into two main groups: fast-acting and slow-acting symptom-modifying. The first

group includes non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), analgesics (simple and opioid), muscle relaxants and glucocorticoids. Among the drugs of the

second group (slow-acting symptom-modifying drugs), the primary role belongs to the natural components of the cartilage matrix — glucosamine, chondroitin, undenatured form of type II collagen [11, 12].

As for the area of application and the main pharmacotherapeutic groups, the majority of veterinary drugs for the treatment of MSD in dogs registered in the register are analgesics, including opioid non-narcotic analgesics and other non-narcotic analgesics — 43 % (which apparently correlates with the presence of

severe pain syndrome as the main symptom of MSD). Then come antibiotics (30 %), NSAIDs (17 %), corticosteroids (8 %) and bone tissue metabolism correctors (2 %) (Fig. 3) [15]. Out of 39 drugs in the analgesic group, 9 positions are domestic, which is 23.1 %, and 30 are foreign (76.9 %).

At the same time, analgesics represent a very wide group by drug form, the dominant one in which is the solution for injections — more than 46 % of the total number of drugs (Table 1).

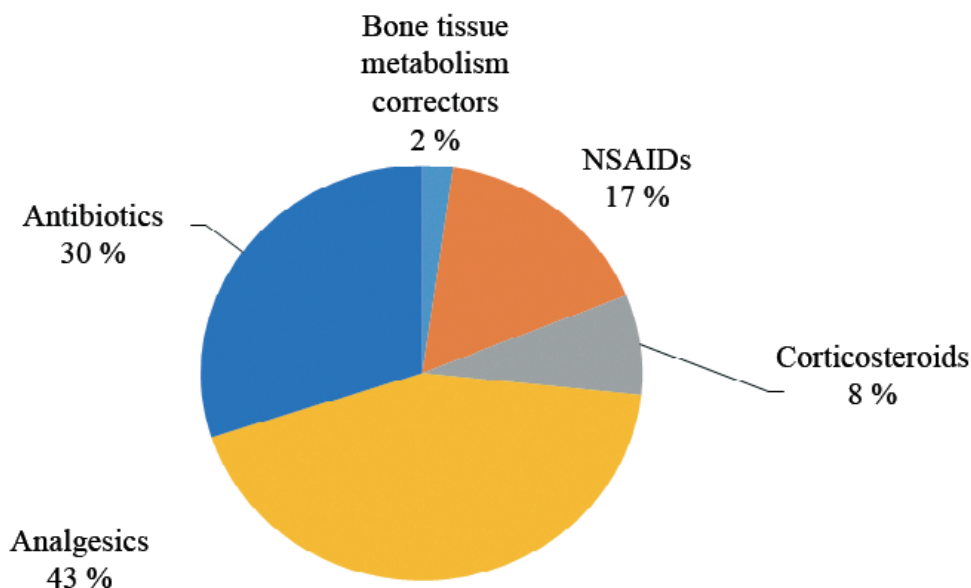


Fig. 3. Distribution of veterinary drugs for the treatment of MSD by main pharmacotherapeutic groups, %

Table 1

Distribution of analgesics for the treatment of MSD by drug form

No.	Drug form	Number, u.	Share to the total number of drugs, %
1	2	3	4
1.	Gel for external use	1	2.6
2.	Liniment for external use	1	2.6
3.	Ointment for external use	1	2.6
4.	Powder for oral administration	1	2.6
5.	Solution for intramuscular administration	1	2.6
6.	Solution for injections	18	46.1
7.	Solution for oral use	2	5.1
8.	Solution for peroral use	1	2.6
9.	Suspension for oral use	2	5.1

Table 1 (the end)

1	2	3	4
10.	Tablets for oral use	2	5.1
11.	Tablets for peroral use	6	15.3
12.	Tablets for oral administration	2	5.1
13.	Enteric-coated tablets	1	2.6

Having analyzed the group of antibacterial agents, we have found that in the register of veterinary drugs they are represented by fluoroquinolones, polypeptide antibiotics, macrolides, ionophore coccidiostatics, tetracyclines, penicillins, etc. The drugs produced in Russia make up 22.2 % [8]. It is important to note that over-the-counter drugs include 26 positions (96.3 %

of the total number of antibiotics for the treatment of MSD in dogs).

The data presented in Table 2 demonstrate the variety of forms of antibiotics in the register of veterinary drugs for the treatment of MSD in dogs. The most preferred form is a solution for oral use — 20 % of the total number of antibacterial drugs.

Table 2

Distribution of antibiotics for the treatment of MSD by drug form

No.	Drug form	Number, u.	Share to the total number of drugs, %
1.	Water-soluble granules for oral use	1	3.7
2.	Granules for oral use	1	3.7
3.	Granules for solution for oral administration	1	3.7
4.	Veterinary plate	1	3.7
5.	Powder for external and oral use	1	3.7
6.	Powder for oral use	3	11.1
7.	Powder for peroral use	2	7.4
8.	Powder for oral administration	1	3.7
9.	Solution for auricular use	1	3.7
10.	Solution for intrauterine administration	1	3.7
11.	Solution for injections	1	3.7
12.	Solution for oral use	6	22.3
13.	Solution for peroral use	2	7.4
14.	Suspension for injections	2	7.4
15.	Suspension for topical use (ear drops)	1	3.7
16.	Suspension for oral use	1	3.7
17.	Tablets for oral administration	1	3.7

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are frequently used pharmacological agents to relieve inflammation and pain in case of MSD.

Despite their efficacy in reducing pain associated, for example, with osteoarthritis, these drugs do not affect the main pathogenetic link of osteoarthritis — cartilage destruction. Moreover, NSAIDs, when used for a long time, can have a negative effect on the gastrointestinal tract (for example, lead to gastric ul-

cer and duodenal ulcer), the renal system (for example, cause acute renal failure) and the liver (for example, an increase in enzyme activity is possible) in animals undergoing short-term and long-term treatment [13, 14].

Unlike the previous groups, NSAIDs are mostly represented by the drugs produced in Russia — 86.7 %. However, the drug forms of NSAIDs do not greatly differ (Table 3).

Table 3

Distribution of NSAIDs for the treatment of MSD by drug form

No.	Drug form	Number, u.	Share to the total number of NSAIDs, %
1.	Solution for injections	11	73.3
2.	Tablets for peroral use (chewable)	1	6.7
3.	Tablets for oral administration	3	20.0

Corticosteroids are effective means for relieving the symptoms of arthrosis and other diseases accompanied by inflammation. Oral, local, intravenous or intramuscular — corticosteroids quickly relieve inflammation, reduce pain. In the register of veterinary drugs, corticosteroids are represented by 7 drugs, 4 of which are produced in Russia.

In the register of veterinary drugs, the group of corticosteroids intended for the treatment of MSD in dogs includes a multicomponent drug in the form of chewable tablets, which includes, along with a corticosteroid, vitamins, vitamin-like substances and metabolites, in particular, nicotinamide, pyridoxine and methionine) (Table 4).

Table 4

Distribution of corticosteroids for the treatment of MSD by drug form

No.	Drug form	Number, u.	Share to the total number of corticosteroids, %
1.	Solution for injections	3	42.8
2.	Solution for external use	1	14.3
3.	Suspension for injections	1	14.3
4.	Tablets for oral administration	1	14.3
5.	Chewable tablets	1	14.3

Among the drugs for the treatment of MSD, an important role belongs to the natural components of the cartilage matrix — glucosamine, chondroitin, undenatured form of type II collagen [11].

The narrowest assortment of drugs is noted in the group of bone tissue metabolism correctors. The register of veterinary drugs contains only two drugs produced in Russia: Gialuvit Chondro — solution for injections; Alezan — cream for joints.

The obtained results indicate the need to search for pharmacologically active substances that have a positive effect on the synthesis of connective tissue, inhibit the processes of bone and cartilage degradation, and activate their restoration, in order to expand the assortment of drugs in veterinary practice.

Considering that MSD in dogs include several diseases with heterogeneous etiology, but with similar biological, morphological and clinical results, in which

the involvement of not only cartilaginous tissue in the pathological process, but also almost all components of the articular organ is noted, a new approach is needed to level the pain and slow the MSD development using combination therapy and the design of multimodal complex drugs.

CONCLUSION

Thus, the conducted study of the assortment structure of the drugs registered in the Russian Federation for the prevention and treatment of MSD allowed us to establish the following.

The main drugs for MSD are chondroprotectors, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), corticosteroids, analgesics, antibiotics.

The results of the study revealed that in September 2024, 2347 drugs were included in the State Register of Veterinary Drugs, with a predominance of imported drugs over domestic ones (61 % versus 39 %). At the same time, the share of drugs for the treatment of musculoskeletal system diseases (MSD) in veterinary practice to the total number of registered in the register is 4 %.

Among the drugs for the treatment of MSD in dogs, the largest part of the assortment is occupied by analgesics (43 %), antibiotics (30 %), NSAIDs (17 %), corticosteroids (8 %) and bone tissue metabolism correctors (2 %).

When assessing the group of bone tissue metabolism correctors, it has been found that it has the narrowest assortment and is represented in the Register by only two drugs produced in Russia, which indicates the need to expand the assortment of this group, given the widespread prevalence of MSD in dogs.

The significant predominance of imported veterinary drugs for the treatment of MSD in dogs over domestic ones, both in general and in terms of individual significant groups, indicates the need to expand the segment of drug provision in veterinary medicine with the drugs produced in Russia.

REFERENCES

1. *Zhetpisova D. R.* Analysis of medicinal products for poultry farming / D. R. Zhetpisova, T. V. Boyko // *Vestnik OmGAU (Bulletin of OSAU)*. — 2021. — No. 4 (44). — P. 123—130.
2. *Parfenyuk A. A.* Relevance of the design of a combination wound healing drug for veterinary use and its potential component composition / A. A. Parfenyuk, A. M. Sampiev, M. P. Semenenko, K. A. Semenenko // *Bulletin of Veterinary Pharmacology*. — 2023. — No. 2 (23). — P. 76—90.
3. *Glagolev S. V.* Russian pharmacovigilance in the context of new regulation — the results of two years and prospects / S. V. Glagolev, K. V. Gorelov, D. A. Chizhova // *Remedium: zhurnal o rossiyskom rynke lekarstv i meditsinskoy tekhnike (Remedium: a journal about the Russian drug market and medical equipment)*. — 2019. — No. 8. — P. 8—13.
4. State Register of Veterinary Drugs. — URL: https://fsvps.gov.ru/fsvps/regLicensing/registration/reg_istratioReestr.html (date of access: 22.07.2024). — Text: electronic.
5. *Biryukova N. P.* Organization of the safety monitoring service for veterinary drugs in manufacturer organizations (holders of registration certificates or in drug manufacturing organizations) / N. P. Biryukova, V. V. Khristenko, P. S. Lobova // *Veterinarnyy vrach (Veterinarian)*. — 2019. — No. 6. — P. 15—22.
6. *Deltsov A. A.* Marketing research of the assortment of veterinary pharmacy organizations / A. A. Deltsov, I. V. Kosova // *Farmatsiya i farmakologiya (Pharmacy and pharmacology)*. — 2015. — No. 5 (12). — P. 31—36.
7. *Kosenko V. V.* Analysis of the assortment of drugs approved for medical use in the Russian Federation / V. V. Kosenko, R. I. Yagudina, O. A. Lednev, V. G. Serpik // *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya (Bulletin of the Scientific Center for Expertise of Medical Products)*. — 2022. — Vol. 12. — No. 1. — P. 79—89.
8. *Cherkasova V. V.* Organizational and methodological approaches to optimizing drug provision of veterinary pharmacy organizations and veterinary clinics on the example Tyumen region: thesis ... Candidate of Pharmaceutical Sciences: 3.4.3. / Cherkasova Victoriya Vladimirovna, Tyumen, 2022. — 270 p.
9. *Alekseeva L. I.* Osteoarthritis: from the past to the future / L. I. Alekseeva, E. S. Tsvetkova // *Nauch. — prakt. Revmatologiya (Scientific and practical rheumatology)*. — 2009. — No. 2, appendix. — P. 31—37.
10. *Sergeev V. N.* Justification of the composition of therapeutic and prophylactic diets in case of the musculoskeletal system diseases / V. N. Sergeev // *Vestnik vosstanovitel'noy meditsiny (Bulletin of Rehabilitation Medicine)*. — 2019. — No. 2 (90). — P. 58—65.
11. *Bruyere O.* An updated algorithm recommendation for the management of knee osteoarthritis from the European Society for Clinical and Economic Aspects of osteoporosis, osteoarthritis and musculoskeletal diseases (ESCEO) / O. Bruyere, G. Honvo, N. Veronese // *Semin Arthritis Rheum*. — 2019; 49(3):337—50.
12. *Kosarev V. V.* Efficacy of modern chondroprotectors in case of osteoarthritis / V. V. Kosarev, S. A. Babanov // *Meditsinskiy sovet (Medical Council)*. — 2014. — No. 5. — P. 92—99.
13. *Lila A. M. A.* Resolution of the Expert Council Results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study of Artneo in patients with primary osteoarthritis of the knee joint stage II—III / M. Lila,

L. I. Alekseeva, I. B. Belyaeva [et al.] // *Sovremennaya revmatologiya (Modern Rheumatology)*. — 2023. — Vol. 17. — No. 6. — P. 136—142.

14. *Haupt R.* Critical discussion of the current environmental risk assessment (ERA) of veterinary medicinal products (VMPs) in the European Union, considering changes in animal husbandry / R. Haupt, C. Heinemann, J. J. Hayer

et al. // *Environmental Sciences Europe*. — 2021. — V. 33. — P. 1—21.

15. *Semenenko K. A.* Content analysis of pharmaceutical assortment for the prevention and treatment of cattle diseases / K. A. Semenenko, A. M. Sampiev, M. P. Semenenko, O. I. Vasiliadi // *Bulletin of Veterinary Pharmacology*. — 2024. — No. 2 (27). — P. 64—79.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

A. M. Sampiev — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Principal Scientific Associate, Professor of the Pharmacy Department;

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

T. E. Onbysh — Candidate of Pharmaceutical Sciences, Applicant for a Doctoral Degree;

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

The article was submitted 17.10.2024.

Научная статья

УДК 619:616—056.54:636.2—053.2:615.37

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2024.4.58

ВЛИЯНИЕ IFN α НА ПОКАЗАТЕЛИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТОСТИ ТЕЛЯТ-ГИПОТРОФИКОВ С КОМОРБИДНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

Дмитрий Александрович Саврасов

Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I,
Воронеж, Россия, dmitrij-savrasov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1293-2249>

Аннотация. В статье представлены результаты изучения активности препарата IFN α при коморбидных патологиях (иммунодефиците) у телят-гипотрофиков. Для исследования были отобраны телята голштинской породы, которые находились в одинаковых условиях содержания и кормления. Новорожденные животные были разделены по принципу аналогов на группы: 1 группа — клинически здоровые телята-нормотрофики ($n = 5$); 2 группа (контрольная) — телята с гипотрофией, которым не применяли препараты ($n = 5$); 3 группа (опытная) — телята-гипотрофики, которым парентерально вводили препарат IFN α бычий рекомбинантный в дозе 0,1 мл/кг двукратно в первые и вторые сутки жизни ($n = 5$). От животных была взята кровь для проведения иммуно-биохимических исследований в 1-е, 7-е и 30-е сутки жизни. Установлено, что применение IFN α положительно влияет на показатели белкового обмена гипотрофиков, способствует нормализации активности гуморального и клеточного звена неспецифической резистентности, что свидетельствует об иммуномодулирующем действии препарата. При этом некоторые показатели у телят опытной группы достигали значений нормотрофиков уже через 7 дней, что доказывает высокую эффективность IFN α бычьего рекомбинантного.

Ключевые слова: гипотрофия, иммунодефицитное состояние, неспецифическая резистентность, интерферон- α , телята

Одним из заболеваний незаразного характера новорожденных и молодняка сельскохозяйственных животных, связанным с нарушением роста и развития во внутриутробный период, является гипотрофия [1].

Довольно часто у физиологически незрелых животных развивается вторичное иммунодефицитное состояние, что усугубляет тяжесть заболевания и диктует необходимость применения в комплексном лечении препаратов с иммунокорригирующим эффектом [2, 3].

Для этих целей наиболее перспективными являются препараты на основе видоспецифичных интерферонов [4]. IFN относятся к регуляторным цитокинам, представляя собой группу биологически активных белков и/или гликопротеинов, синтезируемых клетками в процессе иммунной реакции в ответ на воздействие стимулирующих агентов. Благодаря своей функциональной активности они в полной мере могут претендовать на роль лечебно-профилактических препаратов при вирус-

ных, бактериальных и смешанных инфекциях, а также высокоэффективных иммуномодулирующих и антистрессовых агентов. В настоящее время наиболее широко изученными и используемыми в фармакологической промышленности являются IFN- α и - γ [4, 5].

Целью исследования было изучение биологической активности IFN α при коморбидных патологиях (иммунодефиците) у телят-гипотрофиков.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования были проведены на телятах голштинской породы с рождения и до месячного возраста. Животные находились в одинаковых условиях содержания, кормления и ухода. Новорожденные телята были разделены по принципу аналогов на 3 группы по пять голов в каждой: 1 группа — клинически здоровые телята-нормотрофики; 2 группа (контрольная) — телята с гипотрофией, которым не применяли препараты; 3 группа (опытная) —

телята-гипотрофики, которым парентерально вводили препарат IFN α бычий рекомбинантный в дозе 0,1 мл/кг двукратно в первые и вторые сутки жизни.

У телят кровь брали для морфологического и биохимического анализа из яремной вены с учетом правил асептики и антисептики в 1-е, 7-е и 30-е сутки жизни.

Число лейкоцитов определяли на гематологическом анализаторе «ABX Micros 60». Содержание общего белка; белковые фракции (альбумины, альфа-глобулины, бета-глобулины, гамма-глобулины), Т- и В-лимфоциты, БАСК, ЛАСК, КАСК, ФАЛ согласно утвержденным «Методическим рекомендациям по оценке и коррекции иммунного статуса животных» [6]. С помощью программы Statistica 6.0 проводили статистическую обработку полу-

ченных данных, оценку достоверности — по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате проведенных исследований установлено, что у телят-нормотрофиков в течение месяца наблюдалась тенденция к росту числа лейкоцитов (рис. 1).

У животных контрольной и опытной групп отмечали уменьшение количества лейкоцитов к 7-му дню на 33,7 % ($P < 0,02$) и 21,0 % по сравнению с предыдущим показателем. Однако у гипотрофиков, которым применяли IFN α , в отличие от второй группы, к 30-му дню вновь регистрировали увеличение содержания лейкоцитов до уровня здоровых животных.

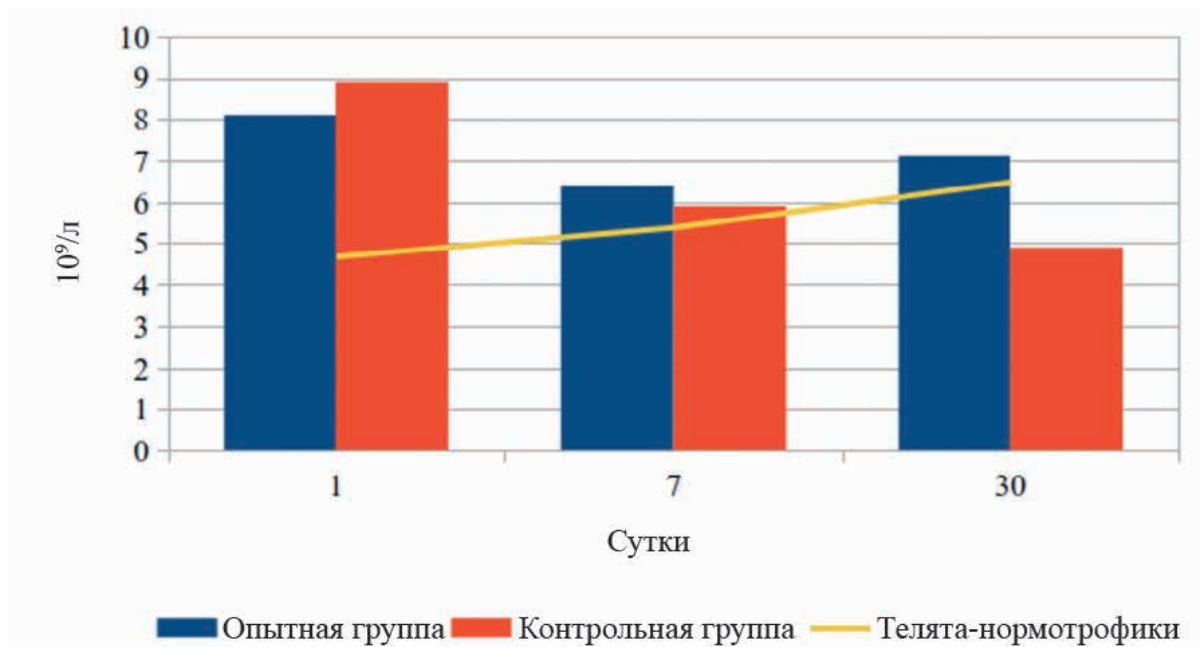


Рис. 1. Количество лейкоцитов в крови телят-гипотрофиков с коморбидной патологией при применении IFN α

Также в сыворотке крови здоровых телят в течение первого месяца жизни отмечали динамику роста концентрации общего белка (рис. 2). У животных второй группы изменения в ходе опыта были статистически недостоверны и ниже показателя у телят первой и третьей групп. У телят опытной группы после введения IFN α уровень общего белка практически достиг значений нормотрофиков.

У молодняка контрольной группы только к 30-му суткам отмечали повышение содержания альбумина до уровня здоровых животных (рис. 3). В опытной группе увеличение количества альбуминов

в сыворотке крови произошло на 7-е сутки опыта на 6,7 % ($P < 0,001$), достигнув значений физиологически зрелых телят.

У телят-нормотрофиков на 7-е сутки опыта наблюдали увеличение концентрации α -глобулинов в 1,6 раза ($P < 0,01$), а у гипотрофиков, наоборот, уменьшение на 5,6 % в контрольной группе и на 17,9 % ($P < 0,05$) в опытной (рис. 4а). К 30-му дню у животных, которым применяли IFN α , изменения уровня α -глобулинов по сравнению со здоровыми телятами были статистически незначимыми, у телят-гипотрофиков второй группы данный показатель был ниже на 23,6 % ($P < 0,01$).

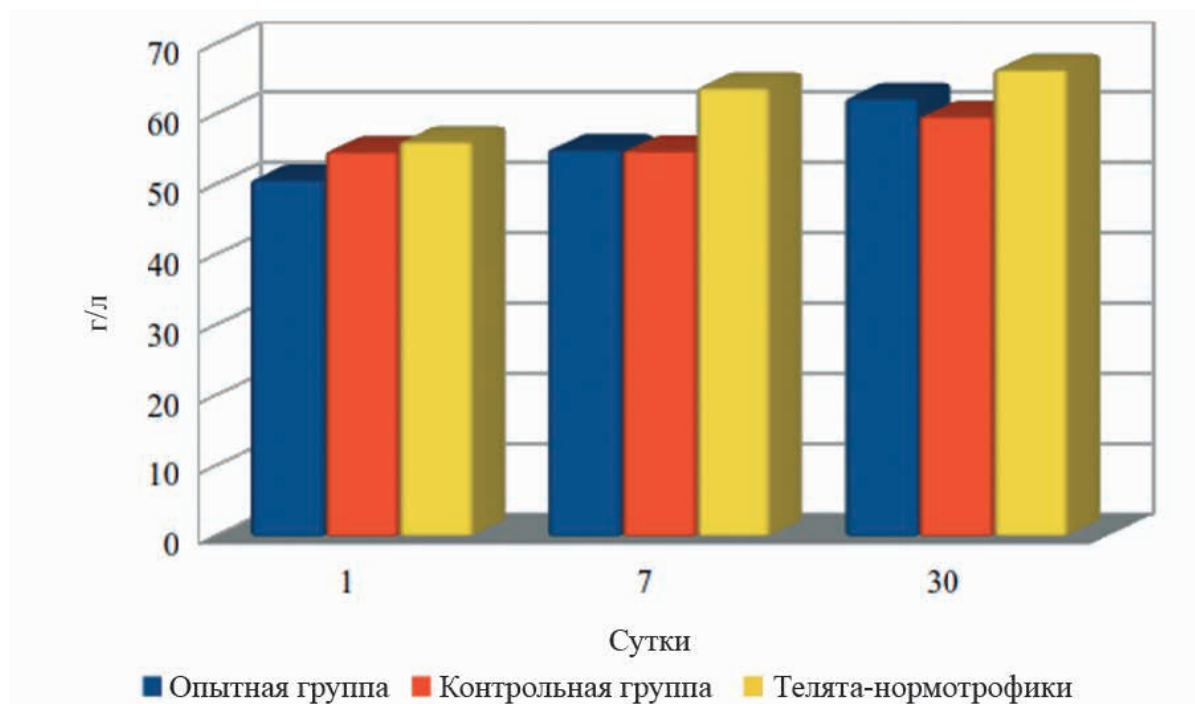


Рис. 2. Влияние IFN α на содержание общего белка у телят-гипотрофиков с коморбидной патологией

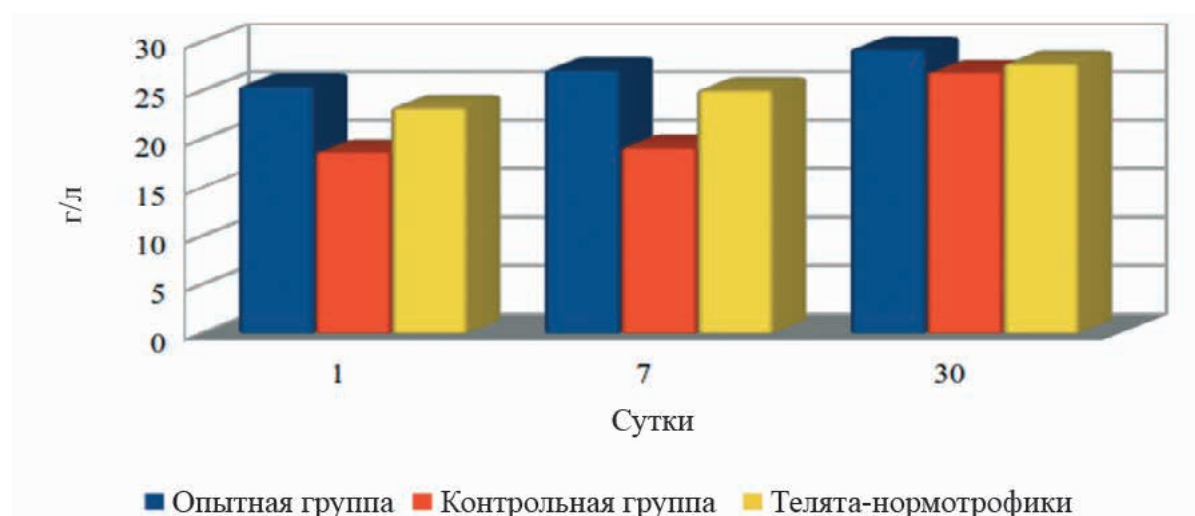


Рис. 3. Содержание альбуминов у телят-гипотрофиков с коморбидной патологией при применении IFN α

Содержание β -глобулинов в сыворотке крови телят контрольной группы в течение опыта было ниже значений нормотрофиков, в то время как у гипотрофиков опытной группы данный показатель статистически не отличался от здоровых телят (рис. 4б).

Концентрация γ -глобулинов у телят второй группы в течение опыта была ниже, чем у здоровых животных первой группы на 36,3 %, 30,2 % и 23,5 % соответственно (рис. 4в). В то же время, у животных опытной группы отмечали увеличение концентрации γ -глобулинов по сравнению с норма-

трофиками через 7 дней на 15,1 % ($P < 0,05$), а через 30 дней — на 5,2 %.

На 7-е и 30-е сутки опыта в контрольной группе у телят показатель ФАЛ практически не изменился и был ниже значений клинически здоровых животных в среднем на 11,9 % (рис. 5). У телят-гипотрофиков с коморбидной патологией (иммунодефицитом) после применения IFN α на 7-е сутки исследований отмечено увеличение ФАЛ на 6,9 % ($P < 0,05$), а на 30-е сутки — на 8,1 % ($P < 0,02$), что соответствовало уровню клинически здоровых телят.

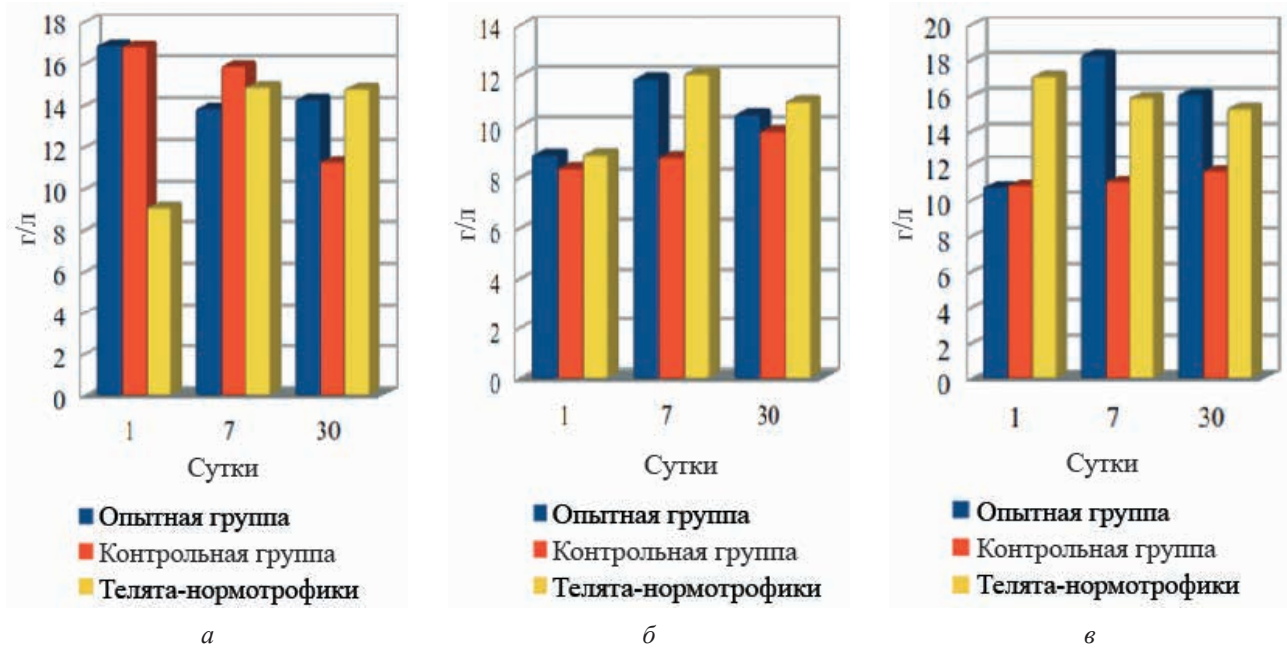


Рис. 4. Содержание глобулинов у телят-гипотрофиков с коморбидной патологией при применении IFN α : а — α -глобулины; б — β -глобулины; в — γ -глобулины

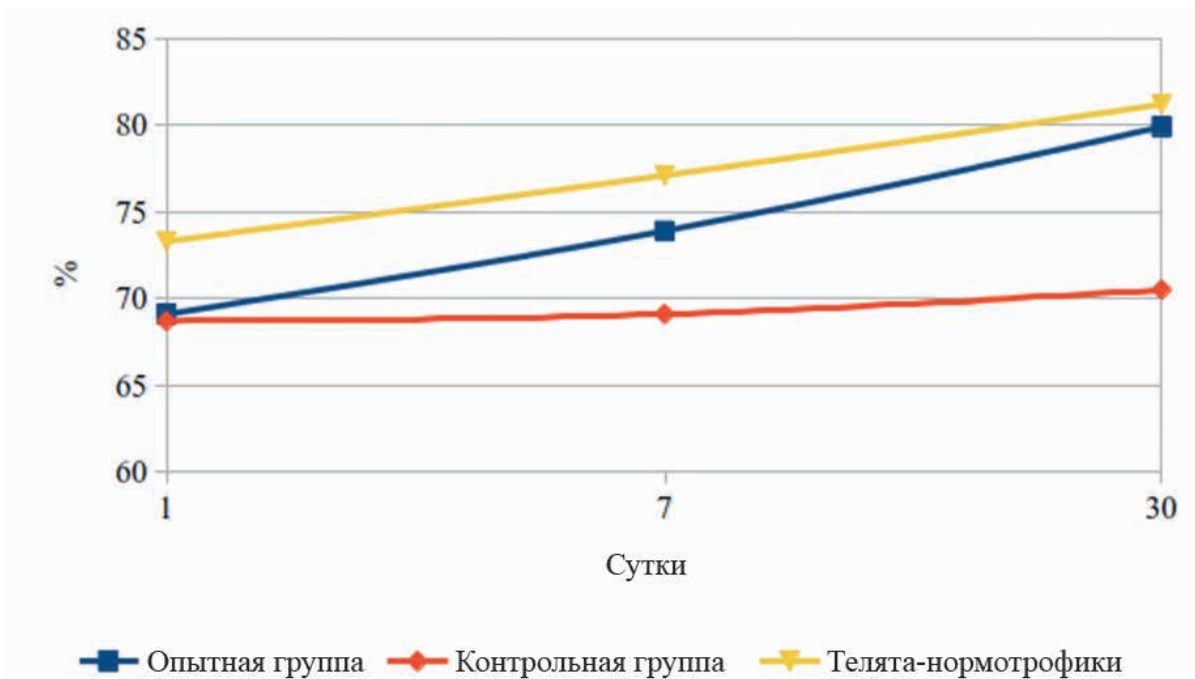


Рис. 5. Влияние IFN α на ФАЛ у телят-гипотрофиков с коморбидной патологией

У телят-гипотрофиков по сравнению с нормотрофиками количество Т- и В-лимфоцитов в крови было ниже на 26,3 % ($P < 0,05$) и 28,6 % ($P < 0,05$), и в контрольной группе практически не изменялось в течение эксперимента (рис. 6). В опытной группе на 7-й день отмечали увеличение числа Т-лимфоцитов на 17,1 % ($P < 0,02$), а к 30-му дню — увеличение показателя до значений здоро-

вых животных. Аналогичную динамику наблюдали в отношении В-лимфоцитов в третьей группе: на 7-й день по сравнению с предыдущим показателем отмечали их рост на 20,0 % ($P < 0,05$), а на 30-й день — на 33,3 % ($P < 0,05$).

Бактерицидная активность сыворотки крови (БАСК) у телят-гипотрофиков опытной и контрольной группы в 1-й день жизни была ниже, чем

у нормотрофиков в среднем на 28,3 % ($P < 0,05$) (рис. 7а). У телят, которым вводили $IFN\alpha$, на 7-й день опыта показатель вырос на 24,3 % ($P < 0,05$)

по сравнению с предыдущим значением и к 30-му дню был ниже здоровых телят на 9,9 %, но выше, чем у животных второй группы на 44,4 % ($P < 0,05$).

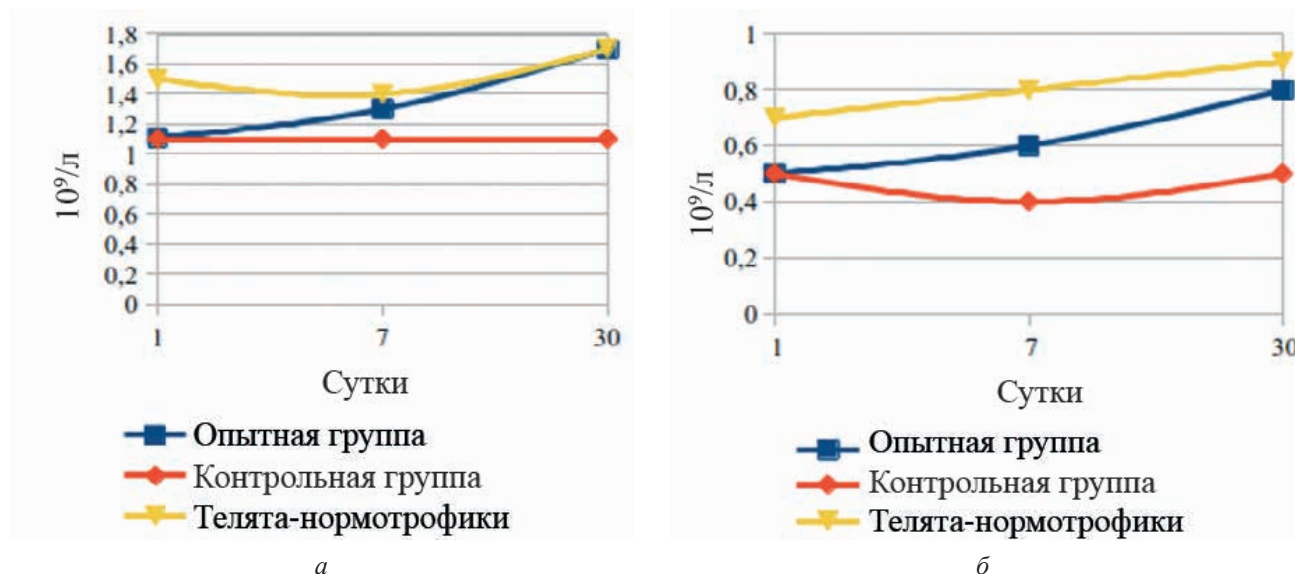


Рис. 6. Количество лимфоцитов у телят-гипотрофиков с коморбидной патологией при применении $IFN\alpha$: а — Т-лимфоциты; б — В-лимфоциты

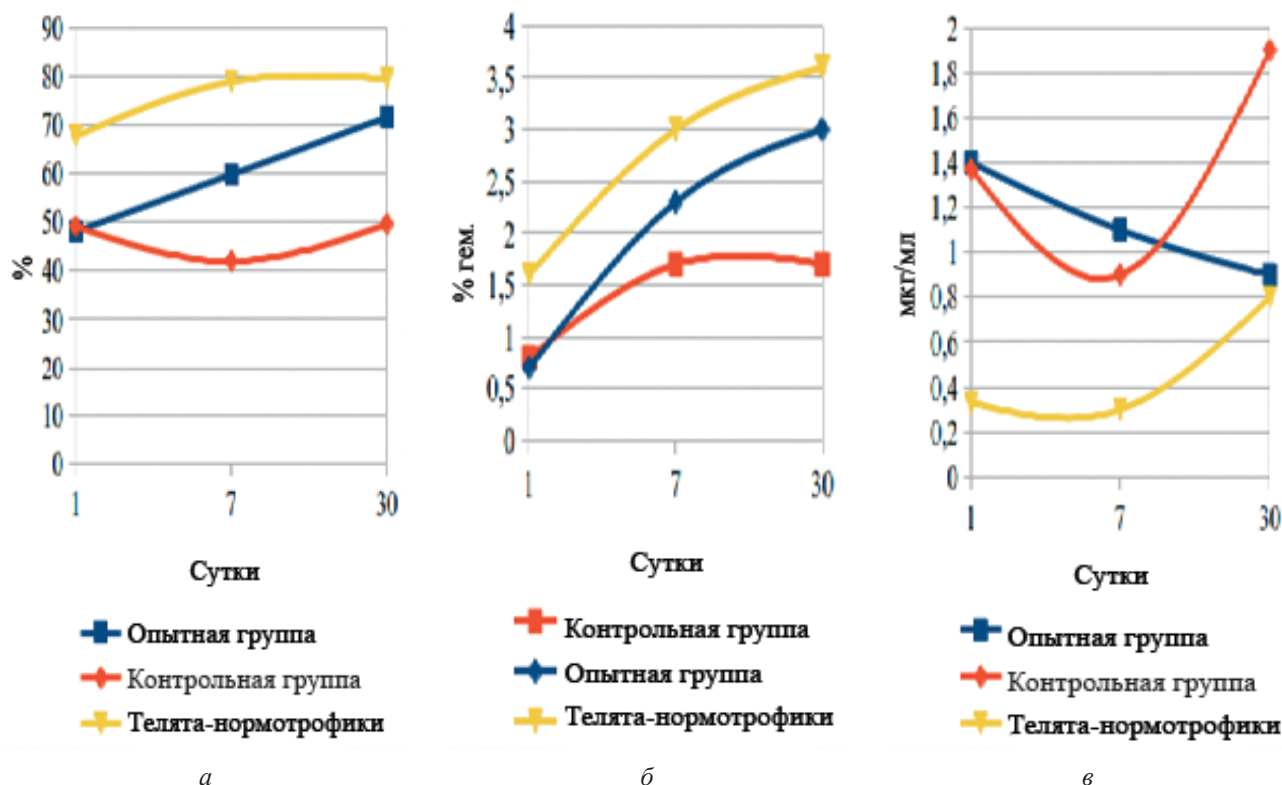


Рис. 7. Влияние $IFN\alpha$ на некоторые показатели гуморального иммунитета у телят-гипотрофиков с коморбидной патологией: а — БАСК; б — КАСК; в — ЛАСК

Комплементарная активность сыворотки крови (КАСК) в 1-й день жизни у гипотрофиков была ниже в среднем в 2,2 раза ($P < 0,01$), чем у нормотрофиков (рис. 7б). На 7-е и 30-е сутки у телят опытной группы зарегистрирован рост КАСК по сравнению с контрольной группой на 35,5 % и в 1,8 раза ($P < 0,001$), но более низкая активность по сравнению со здоровыми телятами на 23,3 % ($P < 0,05$) и 16,7 % соответственно.

У телят-гипотрофиков лизоцимная активность сыворотки крови (ЛАСК) в 1-й день жизни была выше, чем у нормотрофиков в среднем в 4,2 раза ($P < 0,001$), а затем происходило ее снижение (рис. 7в). Однако в контрольной группе по сравнению со здоровыми животными на 7-й и 30-й день исследований отмечали повышение ЛАСК в 3,0 раза ($P < 0,001$) и 2,4 раза ($P < 0,001$). У телят опытной группы по сравнению со здоровыми животными на 7-й день опыта данный показатель был выше в 3,7 раза ($P < 0,01$), а на 30-й день на 12,5 %.

Таким образом, применение препарата INF α способствует нормализации белкового обмена у телят-гипотрофиков и повышению показателей неспецифической иммунологической резистентности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании результатов проведенных исследований можно сделать вывод, что применение INF α бычьего рекомбинантного оказывает положительное влияние на организм телят-гипотрофиков с коморбидной патологией (иммунодефицитом), что сопровождается нормализацией белкового обмена и повышением неспецифической резистентности гуморального (γ -глобулинов, КАСК и БАСК) и клеточного звена (лейкоцитов, Т- и В-лимфоцитов, ФАЛ) иммунитета. При этом

практически все изученные показатели у гипотрофиков при применении препарата восстанавливались в течение опыта до значений физиологически зрелых телят, что подтверждает иммуномодулирующее действие INF α .

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Шабунин С. В. Перинатальная патология у крупного рогатого скота — актуальная проблема ветеринарной медицины / С. В. Шабунин, Ю. Н. Алехин, А. Г. Нежданов // Ветеринария. — 2015. — № 1. — С. 3—10.
2. Динамика показателей белкового обмена у телят — гипотрофиков при применении препарата рекомбинантного лямбда — интерферона / Г. А. Востроилова, Н. А. Хохлова, Е. В. Косякова [и др.] // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2021. — № 1(14). — С. 51—64.
3. Иммунный статус телят-гипотрофиков на фоне применения препаратов на основе рекомбинантных интерферонов / П. А. Паршин, Г. А. Востроилова, Н. А. Хохлова [и др.] // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины». — 2022. — Т. 58, № 3. — С. 133—138.
4. Интерфероны- α и - γ в клинической ветеринарной практике при профилактике и лечении инфекционных заболеваний у крупного рогатого скота и свиней (обзор) / С. В. Шабунин, Г. А. Востроилова, Н. А. Григорьева [и др.] // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. — 2022. — Т. 23, № 1. — С. 16—35.
5. Прокулевич В. А. Ветеринарные препараты на основе интерферона / В. А. Прокулевич, М. И. Потапович // Вестник БГУ. — Серия 2: Химия. Биология. География. — 2011. — № 3. — С. 51—54.
6. Методические рекомендации по оценке и коррекции иммунного статуса животных / А. Г. Шахов, Ю. Н. Масьянов, М. И. Рецкий [и др.]. — Воронеж: Издательство Истоки, 2005. — 115 с.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ

Д. А. Саврасов — кандидат ветеринарных наук, доцент, заведующий кафедрой терапии и фармакологии.

Статья поступила в редакцию 09.11.2024.

EFFECT OF IFN α ON INDICATORS OF NON-SPECIFIC RESISTANCE IN HYPOTROPHIC CALVES WITH COMORBID PATHOLOGY

Dmitriy Aleksandrovich Savrasov

*Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great,
Voronezh, Russia, dmitrij-savrasov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1293-2249>*

Abstract. The article presents the results of studying the activity of the IFN α preparation in case of comorbid pathologies (immunodeficiency) in hypotrophic calves. Holstein calves kept in the same conditions of keeping and feeding were selected for the study. Newborn animals were divided into groups according to the principle of analogues: group 1 — clinically healthy normotrophic calves ($n = 5$); group 2 (control) — calves with hypotrophy, who were not given preparations ($n = 5$); group 3 (experimental) — hypotrophic calves, who were parenterally administered the recombinant bovine IFN α preparation at a dose of 0.1 ml/kg twice on the first and second days of life ($n = 5$). Blood was taken from the animals for immunobiochemical studies on days 1, 7 and 30 of life. It has been established that the use of IFN α has a positive effect on the protein metabolism indicators of hypotrophic animals, promotes the normalization of the activity of the humoral and cellular link of non-specific resistance, which indicates the immunomodulatory effect of the preparation. At the same time, some indicators in the calves of the experimental group reached normotrophic values in 7 days, which proved the high efficacy of recombinant bovine IFN α .

Keywords: hypotrophy, immunodeficiency state, non-specific resistance, interferon- α , calves.

One of the non-infectious diseases of newborns and young farm animals associated with impaired growth and development during the prenatal period is hypotrophy [1].

Quite often, a secondary immunodeficiency state, which aggravates the severity of the disease and dictates the need to use preparations with an immunocorrective effect in complex treatment, develops in physiologically immature animals [2, 3].

For these purposes, the most promising are preparations based on species-specific interferons [4]. IFNs are regulatory cytokines, representing a group of biologically active proteins and/or glycoproteins synthesized by cells during the immune reaction in response to stimulating agents. Due to their functional activity, they can fully claim the role of therapeutic and prophylactic preparations for viral, bacterial and mixed infections, as well as highly effective immunomodulatory and anti-stress agents. Currently, IFN- α and - γ are the most widely studied and used in the pharmaceutical industry [4, 5].

The study objective was to investigate the biological activity of IFN α in case of comorbid pathologies (immunodeficiency) in hypotrophic calves.

MATERIAL AND METHODS

The studies were conducted on Holstein calves from birth to one month of age. The animals were kept in the same conditions of keeping, feeding and care. Newborn calves were divided according to the principle of analogues into 3 groups of five animals each: group 1 — clinically healthy normotrophic calves; group 2 (control) — calves with hypotrophy, who were not given preparations; group 3 (experimental) — calves with hypotrophy, who were parenterally administered the preparation recombinant bovine IFN α at a dose of 0.1 ml/kg twice on the first and second days of life.

Blood was taken from the calves for morphological and biochemical analysis from the jugular vein, taking into account the rules of asepsis and antisepsis on days 1, 7 and 30 of life. The number of leukocytes was determined on the hematology analyzer ABX Micros 60. Total protein content; protein fractions (albumins, alpha globulins, beta globulins, gamma globulins), T- and B-lymphocytes, SBA, SLA, SCA, LPA according to the approved Methodological Recommendations for the Assessment and Correction of the Immune Status of Animals [6]. Using the Statistica 6.0 program, sta-

tistical processing of the obtained data was carried out, reliability was assessed using the Student criterion.

STUDY RESULTS

As a result of the conducted studies, it was established that normotrophic calves showed a tendency for the number of leukocytes to increase during a month

(Fig. 1). In the animals of the control and experimental groups, there was noted a decrease in the number of leukocytes by 33.7 % ($P < 0.02$) and 21.0 % by day 7, compared to the previous indicator. However, in the hypotrophic calves, who were given IFN α , unlike the second group, an increase in the leukocyte content to the level of healthy animals was again recorded by day 30.

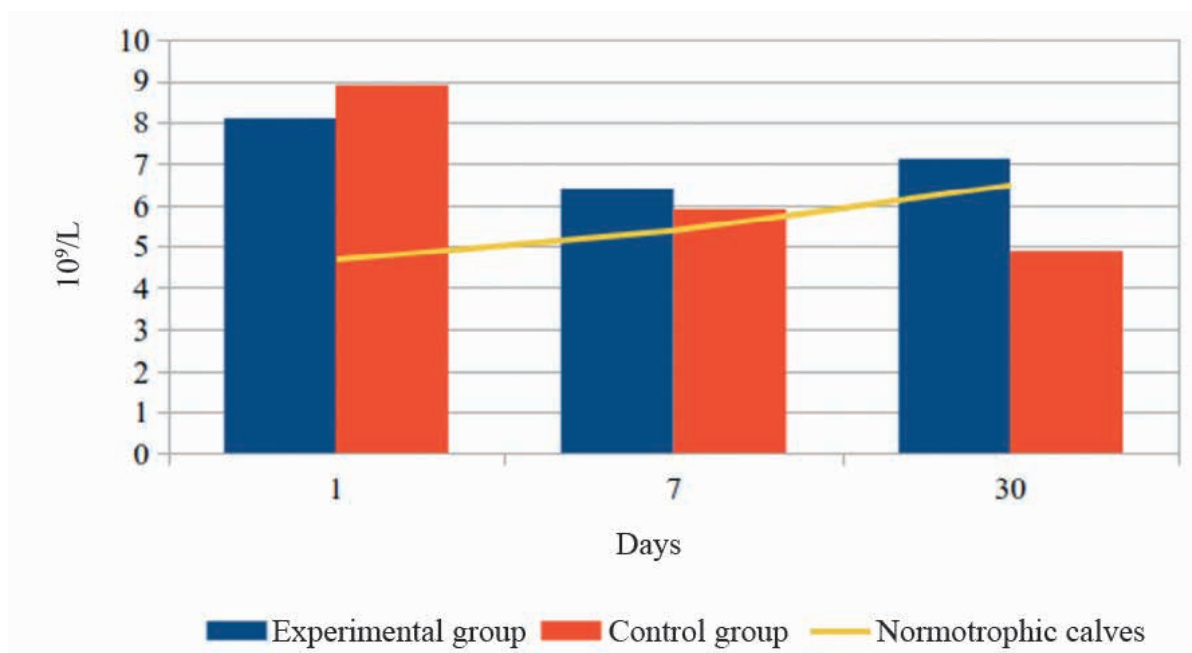


Fig. 1. Number of leukocytes in the blood of hypotrophic calves with comorbid pathology when using IFN α

In the blood serum of healthy calves during the first month of life, the dynamics of the growth of the concentration of total protein was noted (Fig. 2). In the animals of the second group, the changes during the experiment were statistically insignificant and lower than the indicator in the calves of the first and third groups. In the calves of the experimental group, after the introduction of IFN α , the level of total protein practically reached the values of normotrophic animals.

In the young animals of the control group, an increase in the albumin content to the level of healthy animals was noted only by day 30 (Fig. 3). In the experimental group, there occurred an increase in the amount of albumin in the blood serum by 6.7 % ($P < 0.001$) on day 7 of the experiment, reaching the values of physiologically mature calves.

In normotrophic calves, there was observed an increase in the concentration of α -globulins by 1.6 times ($P < 0.01$) on day 7 of the experiment while in hypotrophic calves, on the contrary, there was observed a decrease by 5.6 % in the control group and by 17.9 % ($P < 0.05$) — in the experimental group (Fig. 4a). By day 30, in the animals that were administered IFN α ,

changes in the level of α -globulins, compared to healthy calves, were statistically insignificant, in the hypotrophic calves of the second group this indicator was lower by 23.6 % ($P < 0.01$).

The content of β -globulins in the blood serum of the calves in the control group during the experiment was lower than the values of normotrophic calves, while in the hypotrophic calves of the experimental group this indicator did not statistically differ from healthy calves (Fig. 4b).

The concentration of γ -globulins in the calves of the second group during the experiment was lower than in healthy animals of the first group by 36.3 %, 30.2 % and 23.5 %, respectively (Fig. 4c). At the same time, in the animals of the experimental group, there was noted an increase in the concentration of γ -globulins by 15.1 % ($P < 0.05$) in 7 days, and by 5.2 % — in 30 days, compared to normotrophic animals.

On days 7 and 30 of the experiment, the LPA index in the control group of calves remained virtually unchanged and was lower than the values of clinically healthy animals by an average of 11.9 % (Fig. 5). In hypotrophic calves with comorbid pathology (im-

munodeficiency) after the use of IFN α , there was noted an increase in LPA by 6.9 % ($P < 0.05$) on day 7 of

the study, and by 8.1 % ($P < 0.02$) — on day 30, which corresponded to the level of clinically healthy calves.

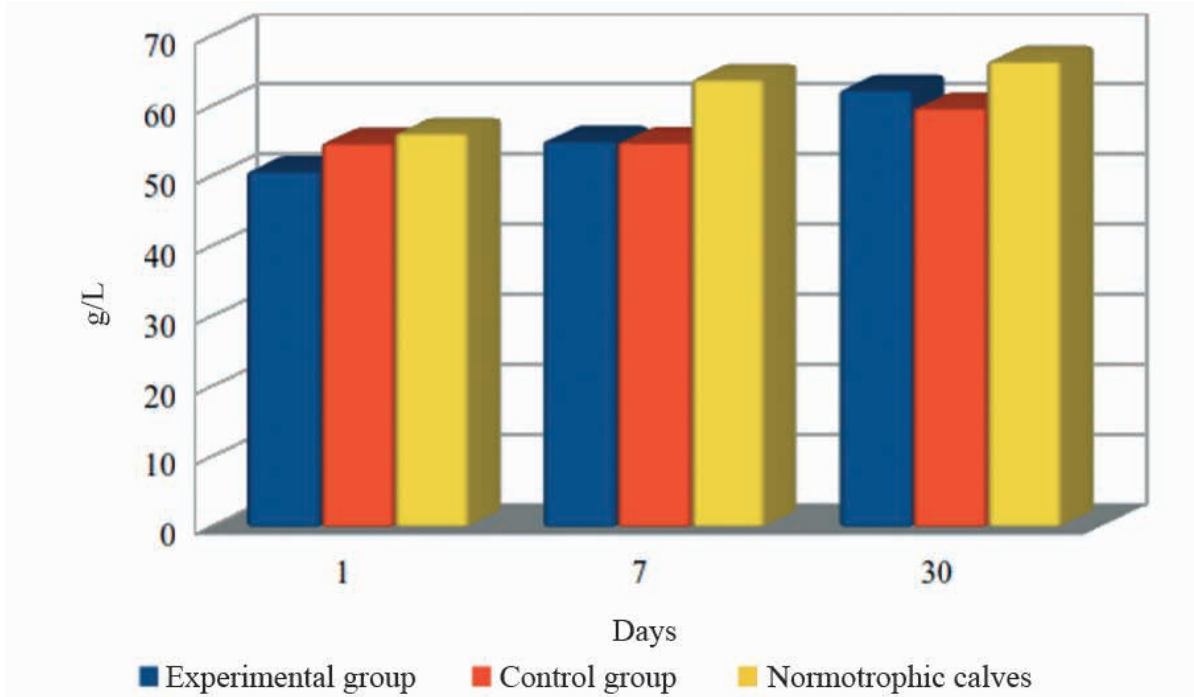


Fig. 2. Effect of IFN α on the total protein content in hypotrophic calves with comorbid pathology

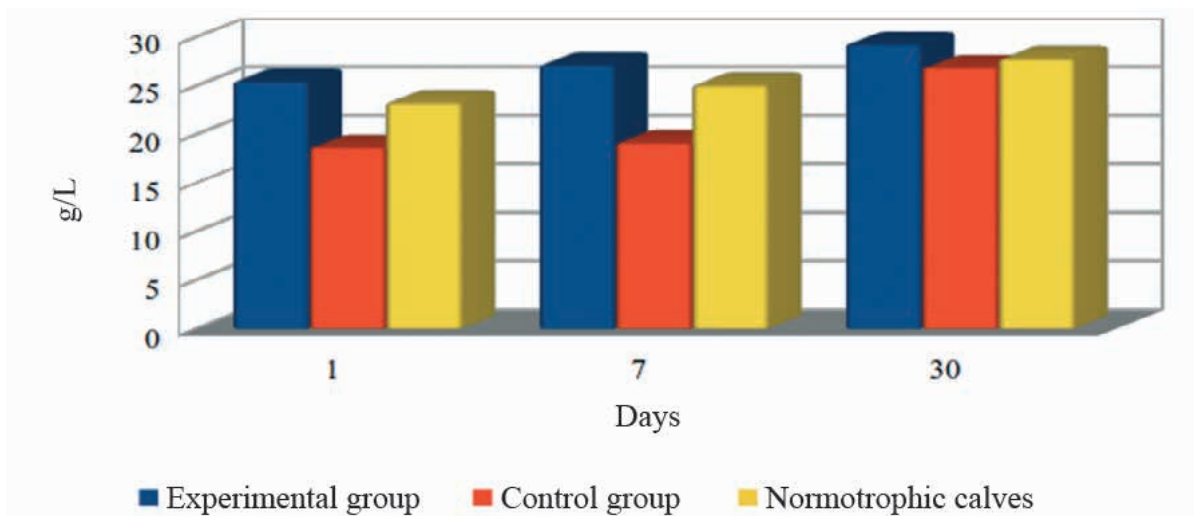


Fig. 3. Albumin content in hypotrophic calves with comorbid pathology when using IFN α

In hypotrophic calves, compared to normotrophic ones, the number of T- and B-lymphocytes in the blood was lower by 26.3 % ($P < 0.05$) and 28.6 % ($P < 0.05$), and in the control group it practically did not change during the experiment (Fig. 6). In the experimental group, there was noted an increase in the number of T-lymphocytes by 17.1 % ($P < 0.02$) on day 7, and an increase in the indicator to the values of healthy animals by day 30. Similar dynamics was observed in re-

lation to B-lymphocytes in the third group: there was noted their growth by 20.0 % ($P < 0.05$) on day 7, and by 33.3 % ($P < 0.05$) — on day 30, compared to the previous indicator,

Serum bactericidal activity (SBA) in the hypotrophic calves of the experimental and control groups on day 1 of life was lower than in normotrophic calves by an average of 28.3 % ($P < 0.05$) (Fig. 7a). In the calves who were administered IFN α , the indicator in-

creased by 24.3 % ($P < 0.05$) on day 7 of the experiment, compared to the previous value, and it was lower than in healthy calves by 9.9 % by day 30, but higher by 44.4 % ($P < 0.05$) than in the animals of the second group.

Serum complementary activity (SCA) on day 1 of life in hypotrophic calves was lower by an average

of 2.2 times ($P < 0.01$) than in normotrophic calves (Fig. 7b).

On days 7 and 30, the calves of the experimental group showed an increase in SCA by 35.5 % and 1.8 times ($P < 0.001$), compared to the control group, but lower activity by 23.3 % ($P < 0.05$) and 16.7 %, respectively, compared to healthy calves.

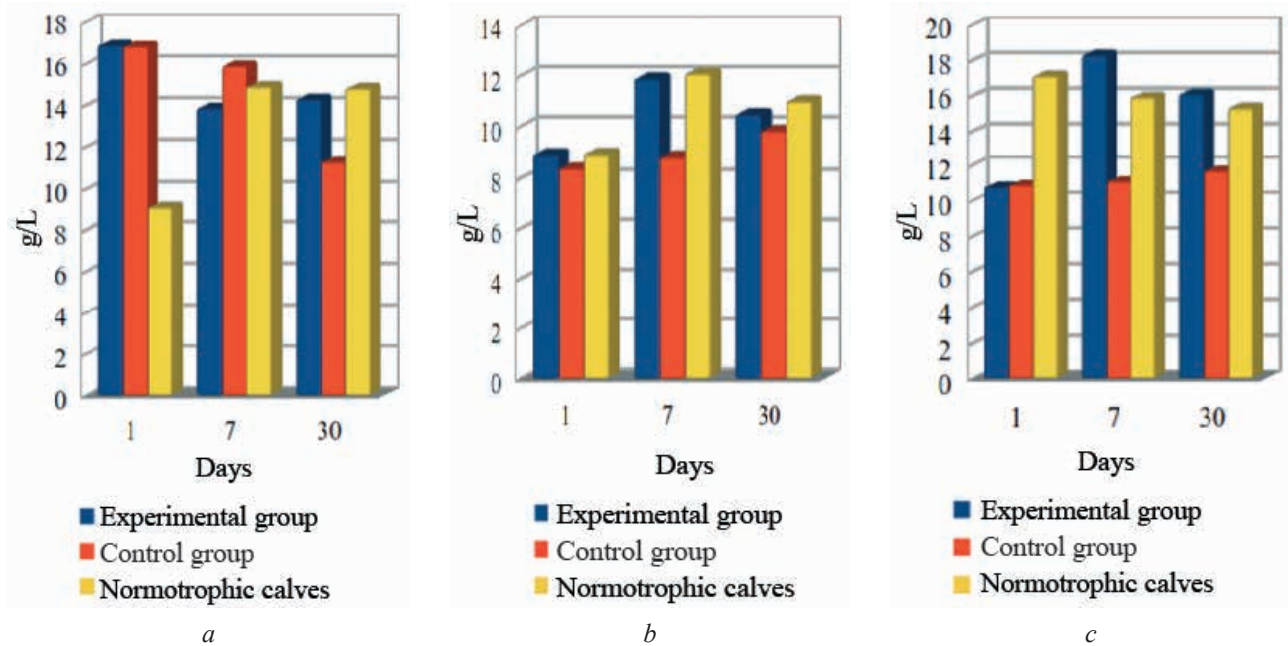


Fig. 4. Globulin content in hypotrophic calves with comorbid pathology when using IFN α :
 a — α -globulins; b — β -globulins; c — γ -globulins

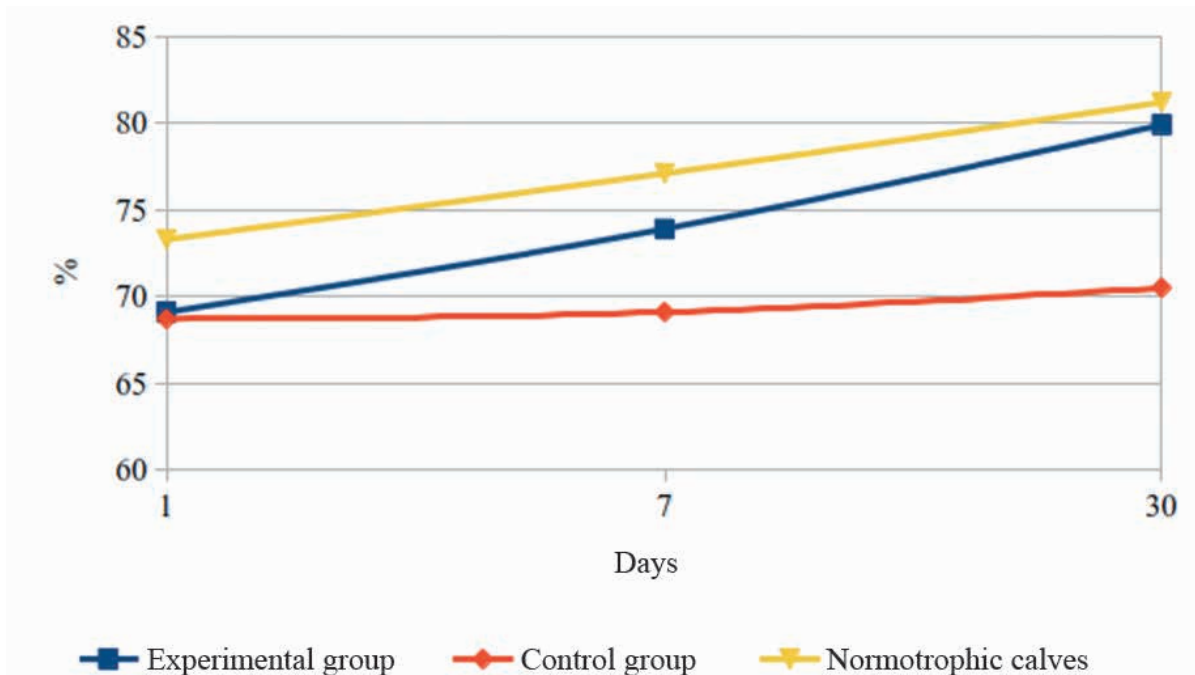


Fig. 5. Effect of IFN α on LPA in hypotrophic calves with comorbid pathology

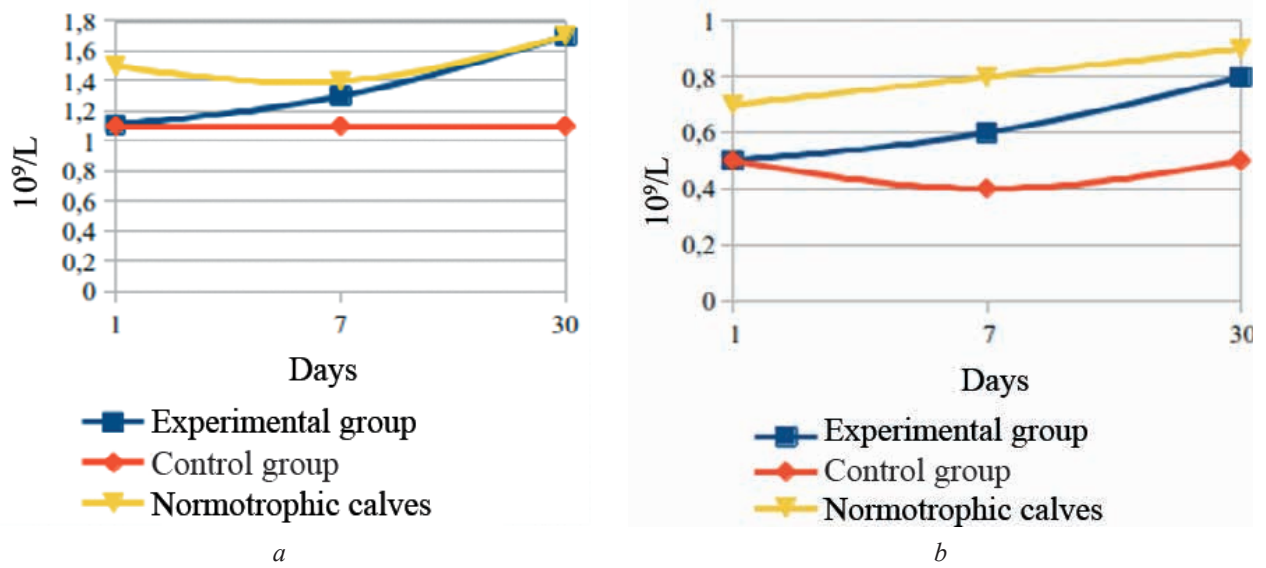


Fig. 6. Number of lymphocytes in hypotrophic calves with comorbid pathology when using IFN α :
a — T-lymphocytes; *b* — B-lymphocytes

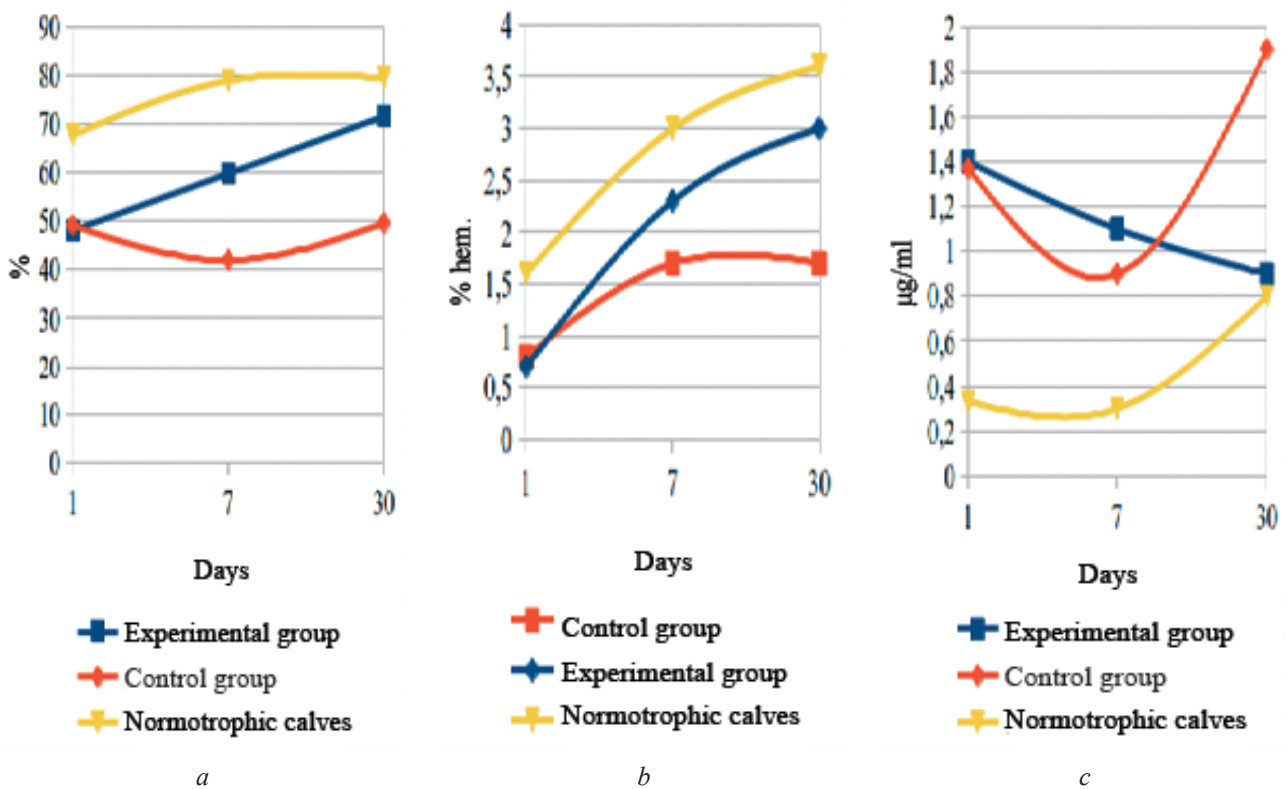


Fig. 7. Effect of IFN α on some indicators of humoral immunity in hypotrophic calves with comorbid pathology:
a — SBA; *b* — SCA; *c* — SLA

In hypotrophic calves, serum lysozyme activity (SLA) on day 1 of life was higher than in normotrophic calves by an average of 4.2 times ($P < 0.001$), and then it decreased (Fig. 7c). However, in the control group, there was an increase in SLA by 3.0 times

($P < 0.001$) and 2.4 times ($P < 0.001$) on days 7 and 30 of the study, compared to healthy animals. In the calves of the experimental group, this indicator was higher by 3.7 times ($P < 0.01$), and on day 30 — by 12.5 % on day 7 of the experiment, compared to healthy animals.

Thus, the use of the IFN α preparation contributes to the normalization of protein metabolism in hypotrophic calves and an increase in nonspecific immunological resistance.

CONCLUSION

Based on the results of the conducted studies, it can be concluded that the use of recombinant bovine IFN α has a positive effect on the body of hypotrophic calves with comorbid pathology (immunodeficiency), which is accompanied by normalization of protein metabolism and an increase in non-specific resistance of humoral (γ -globulins, SCA and SBA) and cellular (leukocytes, T- and B-lymphocytes, LPA) immunity. At the same time, almost all the studied indicators in hypotrophic calves in case of using the preparation were restored during the experiment to the values of physiologically mature calves, which confirmed the immunomodulatory effect of IFN α .

REFERENCES

1. *Shabunin S. V.* Perinatal pathology in cattle — a topical problem of veterinary medicine / S. V. Shabunin, Yu. N. Alekhin, A. G. Nezhdanov // *Veterinariya (Veterinary science)*. — 2015. — No. 1. — P. 3—10.

2. The dynamics of protein metabolism indicators in hypotrophic calves when using recombinant interferon lambda / G. A. Vostroilova, N. A. Khokhlova, E. V. Kosyakova [et al.] // *Bulletin of Veterinary Pharmacology*. — 2021. — No. 1 (14). — P. 51—64.

3. Immune status of hypotrophic calves against the background of the use of preparations based on recombinant interferons / P. A. Parshin, G. A. Vostroilova, N. A. Khokhlova [et al.] // *Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya Vitebskaya ordena Znak pocheta gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsiny (Transactions of the educational establishment Vitebsk Order “Badge of Honor” State Academy of Veterinary Medicine)*. — 2022. — Vol. 58, No. 3. — P. 133—138.

4. Interferons- α and - γ in clinical veterinary practice for the prevention and treatment of infectious diseases in cattle and pigs (review) / S. V. Shabunin, G. A. Vostroilova, N. A. Grigoryeva [et al.] // *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka (Agrarian science of the Euro-North-East)*. — 2022. — Vol. 23, No. 1. — P. 16—35.

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

6. Methodological recommendations for the assessment and correction of the immune status of animals / A. G. Shakhov, Yu. N. Masyanov, M. I. Retskiy [et al.]. — Voronezh: Istoki Publishing House, 2005. — 115 p.

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

D. A. Savrasov — Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Therapy and Pharmacology.

The article was submitted 09.11.2024.

Научная статья

УДК 619:615:618:636

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2024.4.70

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ФАРМАКОРЕГУЛЯЦИИ РЕПРОДУКТИВНЫХ ОРГАНОВ У ЖИВОТНЫХ

Низом Очилович Фармонов*✉, Гулом Мамаюсупович Кулдошев**,
Шахзод Кахрамонович Омонов***, Хумоюн Рашид угли Рахмадуллаев****

* ** *** **** Самаркандский государственный университет ветеринарной медицины,
животноводства и биотехнологии, Самарканд, Узбекистан, farmakon@iutail.uz✉

Аннотация: В статье представлены материалы изучения эффективности сигетина при профилактике эмбриональной смертности у крупного рогатого скота. Установлено, что внутривенные инъекции сигетина способствуют улучшению плацентарного кровообращения, и тем самым, обеспечивают плод необходимым количеством кислорода и пластическими веществами. Введение 1 % раствора сигетина профилактирует эмбриональную смертность и аборт незаразной этиологии у беременных крольчих. Двукратная внутримышечная инъекция 1 % раствора сигетина телкам случного возраста в дозах 20 и 30 мл на животное на 3-й и 7-й дни после осеменения снижает раннюю эмбриональную смертность, повышая оплодотворяемость на 10,0—20,0 %.

Ключевые слова: Беременность, половой рефлекс, имплантация, зигота, плацента, оплодотворение, асфиксия, эмбрион, смертность, аборт

Репродуктивная функция относится к сложным биологическим системам, обеспечивающим воспроизведение сельскохозяйственных животных.

Беременность, согласно учению И. П. Павлова, следует рассматривать, как одно из звеньев сложного цепного врожденного полового рефлекса. Такое понимание беременности исключает ее из категории патологических процессов.

Современные методы исследования значительно расширили наши представления о процессах, сопровождающих становление половой функции и о физиологии беременных животных, т. е. о процессах, протекающих в единой системе мать-плод, где связь между плодом и матерью осуществляется с помощью плаценты. Однако функциональное их единство устанавливается не в период имплантации, а значительно раньше, когда зигота прикрепилась к стенке матки и питание ее происходит за счет маточного молока [1, 2].

Изучение методов борьбы с остро протекающими нарушениями состояния плода, возникающими во время внутриутробного периода, имеет огромное практическое значение. Большая роль в защите плода от действия неблагоприятных факторов принадлежит маточно-плацентарному кровообращению. В настоящее время доказано, что оно ме-

няется в ответ на введение в материнский организм животных фармакологических веществ эстрогенного действия.

Однако, отсутствие долгое время водорастворимых эстрогенных препаратов затрудняло внутривенное введение их, что было необходимо для получения быстрого терапевтического эффекта.

В последние годы типы водорастворимых эстрогенов — сигетин и др. нашли достаточное признание в акушерской практике некоторых стран, которые применяют в период имплантации и плацентации, как средство борьбы с внутриутробной асфиксией в последнем триместре беременности, а также при родах и др.

С этой же целью стали применять антиэстрогенный препарат кломифен цитрат, так как при малом содержании в организме эндогенных эстрогенов он оказывает умеренный эстрогенный эффект [3—5].

Учитывая вышеизложенное, изучение эффективности водорастворимых эстрогенных препаратов в акушерской практике является актуальной задачей.

Цель исследований — изучить эффективность применения препарата сигетин для профилактики эмбриональной смертности у коров.

© Фармонов Н. О., Кулдошев Г. М., Омонов Ш. К., Рахмадуллаев Х. Р. угли, 2024

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования подразумевали проведение двух серий опытов. Первая серия опытов проведена на лабораторных животных — кроликах. Препарат сигетин инъецировали подкожно, внутримышечно и внутривенно, с различной кратностью введения. В ходе экспериментов проведено испытание 1 % раствора сигетина в дозах от 0,5 до 50,0 мл на животное. Были изучено общее состояние, поведенческие реакции при применении препарата сигетин.

Во второй серии опытов проведено изучение эффективности применения сигетина для профилактики эмбриональной смертности у коров. Исследования по этапу проведены в 1997—2001 годах на 50 телках 18-месячного возраста, разделенных по принципу аналогов на пять групп. Телкам первой группы ($n = 10$) 1 % раствор сигетина вводили в дозе 10 мл/животное, второй ($n = 10$) — в дозе 20 мл/животное, третьей ($n = 10$) — в дозе 30 мл/животное, четвертой ($n = 10$) — в дозе 40 мл/животное. Инъекции сигетина проводили дважды — на 3 и 7 дни после осеменения. Телки пятой группы ($n = 10$) служили в качестве контроля, им препараты не назначали. Телки, пришедшие в охоту, осеменялись искусственным методом. Животные, у которых охота была выявлена ночью или утром, осеменяли утром, а телок, приходящих в охоту в течение дня, осеменяли вечером. Через 10—12 часов осемененных телок снова подвергали искусственному осеменению. Оплодотворяемость от первого тура осеменения устанавливали по количеству животных, пришедших в повторную охоту и путем ректального исследования через 45—50 дней после осеменения.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При изучении влияния 1 % раствора сигетина на организм лабораторных животных — кроликов не установлено отрицательного влияния препарата на общее состояние, поведенческие реакции, нервно-рефлекторную активность. При многократном применении 1 % раствора сигетина в больших дозах (50,0 мл) установлено усиление моторики матки, покраснение наружных половых органов.

Кроме того, в экспериментах на кроликах установлено, что при трехкратном внутривенном введении 1 % раствора сигетина смертность новорожденных крольчат уменьшается в 2—3 раза, а также снижается риск аборта у беременных крольчих.

Это свидетельствует о том, что внутривенные инъекции 1 % раствора сигетина улучшают плацен-

тарное кровообращение, обеспечение плода необходимым количеством кислорода и пластическими веществами, что предупреждает его внутриутробную асфиксию различной этиологии и эмбриональную смертность.

Известно, что одной из причин бесплодия коров разного возраста является ранняя эмбриональная смертность. Современные достижения эндокринологии дают теоретическую и практическую основы использования фармакологических веществ в критические периоды воспроизводства, в том числе связанных с развитием зиготы (до 10-го дня), эмбрионального периода (10—40 дней) и развития плода (до родов).

По данным многочисленных исследователей, оплодотворение и подтвержденная стельность после первого осеменения наступает у 30—50 %. Причиной повторных осеменений в срок, превышающий обычно величину нормального полового цикла, является гибель эмбриона. Проблема плодотворного осеменения коров в различные сроки после отела с учетом эмбриональной смертности и гибели плода до сих пор остается слабо изученной, что не позволяет разработать эффективные меры борьбы с бесплодием животных.

Результаты изучения эффективности применения 1 % раствора сигетина для профилактики эмбриональной смертности у коров представлены в таблице.

Установлено, что в контрольной группе, где сигетин не применяли, из телок от первого тура осеменения оплодотворились 5 (50,0 %) голов, при этом животные приходили в охоту почти синхронно. В группе контроля 3 телки проявили повторную охоту с задержкой 5—8 дней. После второго осеменения оплодотворились 2 (20,0 %) головы, а 3 (30,0 %) остались бесплодными. Это свидетельствует о том, что эмбриональная смертность наблюдается и у клинически здоровых животных.

Результаты исследований 1 % раствора сигетина свидетельствуют о том, что данный препарат способствует повышению оплодотворяемости животных, а также значительно снижает процент эмбриональной смертности. Так, в первой опытной группе, которым вводили 1 % раствор сигетина в дозе 10,0 мл, оплодотворилось после первого осеменения 70,0 % животных, от второго — 30,0 %. В четвертой опытной группе, где 1 % раствор сигетина применяли в дозе 40,0 мл/животное, после первого осеменения стельными оказались 80,0 %, оставшиеся 20,0 % животных оплодотворились после второго осеменения.

Таблица 1

Влияние сигетина на оплодотворяемость телок и выживаемость эмбрионов

№ групп	Дозы препарата, мл	Кол-во животных, гол	Оплодотворилось (%) после		
			1-е осеменение, %	2-е осеменение, %	Всего, %
1	10	10	70	30	100
2	20	10	90	10	100
3	30	10	90	10	100
4	40	10	80	20	100
5	Контроль	10	50	20	70

Наилучшие результаты получены во второй и третьей группах, где препарат вводили двукратно в дозе 20,0 и 30,0 мл/животное соответственно. Оплодотворение телок обеих групп после первого осеменения произошло у 90,0 %, после второго — 10,0 %. Таким образом, двукратное введение 1 % раствора сигетина на 3 и 7 дни после осеменения способствует повышению оплодотворения и снижению ранней эмбриональной смертности у телок случного возраста.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Внутривенные инъекции сигетина способствуют улучшению плацентарного кровообращения, и тем самым, обеспечивают плод необходимым количеством кислорода и пластическими веществами. Введение 1 % раствора сигетина профилактирует эмбриональную смертность и аборт незаразной этиологии у беременных крольчих. Двукратная внутримышечная инъекция 1 % раствора сигетина телкам случного возраста в дозах 20 и 30 мл на животное на 3-й и 7-й дни после осеменения в значи-

тельной степени снижает у них раннюю эмбриональную смертность, повышая оплодотворяемость до 90—100 %.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Бреславец В. М.* Эффективность различных гормональных препаратов при нормализации дисфункции яичников // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. — 2013. — № 3 (41). — С. 252—254.
2. *Машковский М. Д.* Лекарственные средства, 1998. — 425 с.
3. *Холиков А.* Гормонал препарат ларнининг хайвонлар бепуштлигини даволашдаги аҳамияти / А. Холиков, Т. Хатамов, Ш. Чалабоев // Veterinariya meditsinasi ilmiy ommabopjurnal. — № 6. — Toshkent. — 2020. — В. 29—30.
4. *Kholikov A.* Effectiveness of the use of siget in and estromax in the treatment of certificate subinvolition in cows / A. Kholikov, Sh. Murodullaev // Galaxy international interdisciplinary research jurnal — 2022. — Vol. 10. — P. 126—137.
5. *Соколов В. Д.* Ветеринарная фармакология Учебник. Санкт-Петербург, 2010. — С. 270—273.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Н. О. Фармонов — доцент;
Г. М. Кулдошев — ассистент (PhD);
Ш. К. Омонов — ассистент;
Х. Р. Рахмадуллаев — магистр.

Статья поступила в редакцию 28.10.2024.

Original article
UDC 619:615:618:636

SOME ASPECTS OF PHARMACOREGULATION OF GENITAL ORGANS IN ANIMALS

Nizom Ochilovich Farmonov*✉, Gulom Mamayusupovich Kuldoshev**,
Shakhzod Kakhramonovich Omonov***, Khumoyun Rashid ugli Rakhmadullaev****

*, **, ***, *****Samarkand State University of Veterinary Medicine, Animal Husbandry
and Biotechnology, Samarkand, Uzbekistan, farmakon@umail.uz*✉

Abstract. The article presents the results of studying the efficacy of sygethin in preventing embryonic mortality in cattle. It has been found that intravenous injections of sygethin improve placental blood circulation, thereby providing the fetus with the necessary amount of oxygen and plastic substances (macronutrients). The introduction of a 1 % sygethin solution prevents embryonic mortality and abortions of non-infectious etiology in pregnant rabbits. Double intramuscular injection of a 1 % sygethin solution to heifers of breeding age at doses of 20 and 30 ml per animal on days 3 and 7 after insemination reduces early embryonic mortality, increasing fertility by 10.0—20.0 %.

Keywords: pregnancy, sexual reflex, implantation, zygote, placenta, fertilization, asphyxia, embryo, mortality, abortions

The reproductive function refers to complex biological systems that ensure the reproduction of farm animals.

Pregnancy, according to the teachings of I. P. Pavlov, should be considered as one of the links in a complex chain of innate sexual reflexes. This understanding of pregnancy excludes it from the category of pathological processes.

Modern research methods have significantly expanded our understanding of the processes accompanying the development of sexual function and the physiology of pregnant animals, i. e., the processes occurring in a single mother-fetus system, where the connection between the fetus and the mother is carried out with the help of the placenta. However, their functional unity is established not during the period of implantation, but much earlier, when the zygote has attached to the wall of the uterus and its nutrition occurs [1, 2].

The study of methods for combating acute fetal disorders that occur during the intrauterine period is of great practical importance. The uteroplacental circulation plays a major role in protecting the fetus from adverse factors. It has now been proven that it changes in response to the introduction of estrogenic pharmacological substances into the maternal organism of animals.

However, the absence of water-soluble estrogenic drugs for a long time made it difficult to administer

them intravenously, which was necessary to obtain a rapid therapeutic effect.

In recent years, types of water-soluble estrogens — sygethin, etc. have found sufficient recognition in obstetric practice in some countries, which are used during the period of implantation and placentation, as a means for combating intrauterine asphyxia in the last trimester of pregnancy, as well as during parturition, etc.

For the same purpose, they began to use the anti-estrogenic drug clomiphene citrate, since in case of a low content of endogenous estrogens in the body, it has a moderate estrogenic effect [3—5].

Considering the above, studying the efficacy of water-soluble estrogen drugs in obstetric practice is an urgent task.

The research objective is to study the efficacy of the drug sygethin for the prevention of embryonic mortality in cows.

MATERIAL AND METHODS

The research involved conducting two series of experiments. The first series of experiments was conducted on laboratory animals — rabbits. The drug sygethin was injected subcutaneously, intramuscularly and intravenously, with different frequency of administration. During the experiments, a 1 % sygethin solution was tested at doses from 0.5 to 50.0 ml per ani-

mal. The general condition and behavioral reactions to the use of the drug sygethin were studied.

The second series of experiments studied the efficacy of using sygethin to prevent embryonic mortality in cows. The studies were conducted in 1997—2001 on 50 18-month-old heifers divided into five groups based on the principle of analogues. The heifers of the first group ($n = 10$) were administered a 1 % sygethin solution at a dose of 10 ml/animal, the second ($n = 10$) — at a dose of 20 ml/animal, the third ($n = 10$) — at a dose of 30 ml/animal, the fourth ($n = 10$) — at a dose of 40 ml/animal. Sygethin injections were performed twice — on days 3 and 7 after insemination. The heifers of the fifth group ($n = 10$) served as a control, they were not prescribed the drugs. The heifers in estrus were inseminated artificially. The animals that were detected to be in estrus at night or in the morning were inseminated in the morning, and heifers that came into estrus during the day were inseminated in the evening. In 10—12 hours, the inseminated heifers were again artificially inseminated. Fertilization from the first round of insemination was established by the number of animals that came into estrus again and by rectal examination — 45—50 days after insemination.

STUDY RESULTS

When studying the effect of a 1 % sygethin solution on the body of laboratory animals — rabbits, there was found no negative effect of the drug on their general condition, behavioral reactions, neuroreflex activity. With repeated use of a 1 % sygethin solution at large doses (50.0 ml), increased uterine motility and reddening of the external genital organs were found.

In addition, experiments on rabbits have shown that with three intravenous injections of a 1 % sygethin solution, the mortality rate of newborn rabbits decreases

by 2—3 times, and the risk of abortion in pregnant rabbits also decreases. This indicates that intravenous injections of a 1 % sygethin solution improve placental circulation, providing the fetus with the necessary amount of oxygen and plastic substances (macronutrients), which prevents intrauterine asphyxia of various etiologies and embryonic mortality.

It is known that one of the causes of infertility in cows of different ages is early embryonic mortality. Modern achievements in endocrinology provide theoretical and practical grounds for the use of pharmacological substances in critical periods of reproduction, including those associated with the zygote development (up to day 10), the embryonic period (10—40 days) and fetal development (before delivery).

According to numerous researchers, fertilization and confirmed pregnancy after the first insemination occurs in 30—50 %. The reason for repeated inseminations at a time exceeding the normal sexual cycle is the death of the embryo. The problem of fruitful insemination of cows at different times after calving, taking into account embryonic mortality and fetal death, remains poorly studied, which does not allow us to develop effective measures to combat animal infertility.

The results of the study of the efficacy of using a 1 % sygethin solution for preventing embryonic mortality in cows are presented in the Table.

It was found that in the control group, where sygethin was not used, 5 (50.0 %) of the heifers from the first insemination were fertilized, and the animals came into estrus almost synchronously. In the control group, 3 heifers showed repeated estrus with a delay of 5—8 days. After the second insemination, 2 (20.0 %) animals were fertilized, and 3 (30.0 %) remained infertile. This indicates that embryonic mortality is also observed in clinically healthy animals.

Table 1

Effect of sygethin on heifer fertility and embryo survival

No. of groups	Doses of the drug, ml	Number of animals	Fertilization (%) after		
			Insemination 1, %	Insemination 2, %	Total, %
1	10	10	70	30	100
2	20	10	90	10	100
3	30	10	90	10	100
4	40	10	80	20	100
5	Control	10	50	20	70

The results of the studies of a 1 % sygethin solution indicate that this drug helps to increase the fertility of animals, and also significantly reduces the percentage of embryonic mortality. Thus, in the first experimental group, which were administered a 1 % sygethin solution at a dose of 10.0 ml, 70.0 % of animals were fertilized after the first insemination, and 30.0 % — after the second. In the fourth experimental group, where a 1 % sygethin solution was used at a dose of 40.0 ml/animal, 80.0 % were pregnant after the first insemination, the remaining 20.0 % of animals were fertilized after the second insemination.

The best results were obtained in the second and third groups, where the drug was administered twice at a dose of 20.0 and 30.0 ml/animal, respectively. Fertilization of heifers in both groups after the first insemination occurred in 90.0 %, after the second — 10.0 %.

Thus, double administration of a 1 % sygethin solution on days 3 and 7 after insemination helps to increase fertilization and reduce early embryonic mortality in heifers of breeding age.

CONCLUSION

Intravenous injections of sygethin help to improve placental blood circulation, and thus provide the fetus with the necessary amount of oxygen and plastic

substances (macronutrients). Administration of a 1 % sygethin solution prevents embryonic mortality and abortions of non-infectious etiology in pregnant rabbits. Double intramuscular injection of 1 % sygethin solution to heifers of breeding age at doses of 20 and 30 ml per animal on days 3 and 7 after insemination significantly reduces early embryonic mortality, increasing fertilization to 90—100 %.

REFERENCES

1. *Breslavets V. M.* Efficacy of various hormonal drugs in normalizing ovarian dysfunction // *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* (Bulletin of Orenburg State Agrarian University). — 2013. — No. 3 (41). — P. 252—254.
2. *Mashkovskiy M. D.* Medicines, 1998. — 425 p.
3. *Kholikov A.* Efficacy of a hormonal drug on the functioning of the ovaries / A. Kholikov, T. Khatamov, Sh. Chalaboev // *Scientific journal of veterinary medicine*. — No. 6. — Tashkent. — 2020. — P. 29—30.
4. *Kholikov A.* Effectiveness of the use of siget in and estromax in the treatment of certificate subinvolution in cows / A. Kholikov, Sh. Murodullaev // *Galaxy international interdisciplinary research journal* — 2022. — Vol. 10. — P. 126—137.
5. *Sokolov V. D.* Veterinary pharmacology Textbook. St. Petersburg, 2010. — P. 270—273.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

N. O. Farmonov — Associate Professor;
G. M. Kuldoshev — Assistant Professor (PhD);
Sh. K. Omonov — Assistant Professor;
Kh. R. Rakhmadullaev — Master.

The article was submitted 28.10.2024.

СРЕДСТВА ЗООГИГИЕНЫ, ДЕЗИНФЕКЦИИ, ДЕЗИНСЕКЦИИ И ДЕРАТИЗАЦИИ

Научная статья

УДК 615.015.8

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2024.4.76

ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ И ЕГО ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ТЕМПОВ РАСПРОСТРАНЕНИЯ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

Александр Анатольевич Комаров*, Елизавета Николаевна Гончарова**

*Российский биотехнологический университет, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-2799-6760>

**МИП Академия инноваций, Москва, Россия, akomarov1965@gmail.com,

<https://orcid.org/0000-0002-2207-3257>

Аннотация. Изучение фармакокинетики амоксициллина у КРС и овец после применения препарата «Амоксиантарь 150» позволило разработать оптимальную схему его применения, обеспечивающую абсорбцию, распределение и пролонгированное действие в организме КРС и овец для эффективной терапии широкого спектра заболеваний бактериальной этиологии и снижения темпов распространения антибиотикорезистентности. После внутримышечного или подкожного введения лекарственного препарата КРС и овцам амоксициллин быстро попадает в системный кровоток, уже через 15 мин после внутримышечного введения средняя концентрация в плазме составила 250—1139 нг/мл. Далее концентрация амоксициллина последовательно росла, время наступления максимальной концентрации составило 2,3—3,8 ч. Концентрация амоксициллина в крови КРС превышает значения МИК многих возбудителей до 30 ч после введения препарата и до 24 ч — в крови овец. Учитывая, что для исследуемого препарата предлагается интервал введения в 48 ч, это обеспечит $T > \text{МИК}$ не менее 50 % во время курса дачи препарата.

Ключевые слова: антибиотикорезистентность, фармакокинетика, Амоксиантарь 150, амоксициллин, КРС, овцы

Абсорбция и распределение лекарственных препаратов для животных в сочетании с режимом дозирования определяют их фармакокинетический профиль, а также концентрацию в крови и динамику распределения действующих веществ в тканях-мишенях. Наибольший интерес представляет взаимосвязь между концентрациями действующего вещества в крови животных и антибактериальным эффектом. Кроме того, исследования показывают заметные различия антимикробной активности антибактериальных препаратов с течением времени, что является важным фактором, определяющим эффективные режимы дозирования.

Ранее проводились исследования устойчивости различных бактерий к широкому спектру антимикробных препаратов [1]. С помощью технологии массивного параллельного секвенирования у полирезистентных изолятов *Salmonella infantis* нами были выявлены большие *pESI*-плазмиды обеспечивающие множественную устойчивость ко

многим антимикробным препаратам [2]. Активное применение антимикробных лекарственных препаратов вызывает снижение их эффективности за счет антибиотикорезистентности. Таким образом важно до выведения таких препаратов на рынок установить оптимальные режимы дозирования, которые будут позволять действующим веществам достигать терапевтических концентраций, которые выше не только минимальных ингибирующих концентраций (МИК), но и поддерживать их на уровне концентрации, предотвращающей мутации (КПМ) достаточный период времени для гибели максимального количества возбудителей инфекции. Концентрация предотвращающая мутации- самая низкая концентрация антимикробных препаратов, способная предотвратить отбор мутирующих микроорганизмов в популяции, которую можно попытаться использовать для минимизации рисков появления антибиотикорезистентности [К. Drlica, 2003]. Таких результатов можно до-

стичь по итогам изучения фармакокинетики действующих веществ лекарственных препаратов для животных. Ключевыми фармакокинетическими параметрами для решения проблемы антибиотикорезистентности будут [4]:

- для время-зависимых антимикробных препаратов с минимально выраженным постантибиотическим эффектом (бета-лактамы, макролиды, гликопептиды и др.) соотношение периода времени (T) в течение которого концентрация препарата в крови превышает величину МИК для конкретного возбудителя инфекции по сравнению со всем периодом между введениями препарата определяемое в % ($T > \text{МИК}$);
- для концентрация-зависимых антимикробных препаратов с выраженным постантибиотическим эффектом (фторхинолоны, аминогликозиды, нитроимидазолы и др.) величина отношения площади под фармакокинетической кривой (AUC) и МИК (AUC/МИК) и максимальной концентрации препарата (C_{max}) и МИК ($C_{\text{max}}/\text{МИК}$).

Так, например, максимальная эффективность антибиотиков, таких как ципрофлоксацин, левофлоксацин и ампициллин, достигается при величине AUC/МИК от 80 до 125 для грамотрицательных бактерий при $C_{\text{max}}/\text{МИК}$, равном 8—10 [5], а для пенициллинов доза будет эффективной при соотношении $T > \text{МИК}$ около 40 % для достижения бактерицидной концентрации, а для цефалоспоринов — 65—75 % [6, 7]. Таким образом, изучение фармакокинетического профиля действующих веществ лекарственных средств является важной частью исследований, которое позволяет выбрать оптимальные дозы и способы введения препарата для эффективного лечения животных и снижения темпов распространения антибиотикорезистентности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве исследуемого препарата использовали инновационный комбинированный противомикробный препарат в форме суспензии для инъекций «Амоксиантарь 150», созданный в результате реализации комплексного проекта на тему: «Разработка инновационных средств защиты здоровья с/х животных и внедрение их в производство» головным исполнителем которого является ФГБОУ ВО «РОСБИОТЕХ», а в качестве индустриального партнера выступает компания ООО «НВЦ Агротезащита С-П.». Конкурентные преимущества созданного препарата заключаются в его уникальном составе, не имеющем аналогов у нас в стране и за рубежом за счет комбинации

высокоэффективного пролонгированного антимикробного средства широкого спектра действия (амоксициллина) с естественным компонентом живых клеток (янтарная кислота), обеспечивающем более эффективное действие на микроорганизмы, в т. ч. способные образовывать биопленки за счет усиления проницаемости мембран бактериальных клеток и антиоксидантного действия (ссылка на патент № RU2786919 C1).

Животные

Изучение фармакокинетики амоксициллина проводили на пяти телятах породы холмогорская 3-месячного возраста и на шести 3-летних овцах породы романовская. Все животные, использованные в исследовании, были клинически здоровы.

При изучении фармакокинетики амоксициллина отбирали контрольные образцы крови телят и овец. После чего препарат применяли внутримышечно или подкожно однократно в дозе 15 мг амоксициллина на 1 кг массы тела животного. После введения препарата отбирали образцы крови через 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6; 8; 10; 12; 24; 30; 48; 54; 72; 96; 120; 144; 192 и 264 ч. Образцы крови помещали в пробирки с гепарином лития и центрифугированием отделяли плазму, в которой в дальнейшем определяли содержание действующих веществ [8].

Методика определения

Для определения амоксициллина использовали ВЭЖХ—МС/МС анализ. Хроматографическое разделение осуществляли на колонке с обращено-фазовым сорбентом Synergi Fusion-RP (50 мм x 2 мм; 4 мкм, Phenomenex, США). В качестве подвижных фаз использовали 0,5 % раствор муравьиной кислоты в воде и в метаноле. Разделение осуществляли в градиентном режиме элюирования. Детектируемым веществом является дериват, который получали в ходе пробоподготовки с использованием пирролидина, имеющий молярную массу 436 г/моль. Конечный аналит детектируется в отрицательном режиме ионизации с m/z 435.3, при фрагментировании дает ионы-продукты с m/z 263.1; 357.2 и 340.1 [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для целей оценки фармакокинетики амоксициллина у КРС и овец при внутримышечном и подкожном введении применили 2-компарментную фармакокинетическую модель, которая обеспечила хорошее совпадение прогнозируемых значений концентрации амоксициллина в плазме крови с фактически измеренными. Применимость 2-компарментной модели объясняется способно-

стью амоксициллина к проникновению как в ткани с очень интенсивным обменом веществ (печень, почки), так и ткани с менее интенсивным обменом веществ (мышечную, жировую ткань), чему дополнительно способствует относительно невысокая (17—20 %) степень связывания амоксициллина с белками плазмы [10]. После внутримышечного (ВМ) или подкожного (ПК) введения лекарственного препарата КРС и овцам амоксициллин быстро попадает в системный кровоток, уже через 15 мин после внутримышечного введения средняя концентрация в плазме составила 250—1139 нг/мл. Далее концентрация амоксициллина последовательно росла, время наступления максимальной концентрации составило 2,3—3,8 ч [8].

Значение кажущегося объема распределения V/F составило 2,7—5,7 л/кг. Высокие значения объема распределения свидетельствуют о том, что амоксициллин интенсивно проникает в органы и ткани из крови. Это имеет критически важное значение, поскольку для бета-лактамов антибиотиков важным условием реализации антимикробного эффекта является поддержание концентрации антибиотика на уровне, превышающем МИК [7].

Амоксициллин характеризуется высокой эффективностью в отношении распространенных возбудителей инфекций: *M. haemolytica* (МИК 0,1—0,2 мкг/мл), *P. multocida* (МИК 0,18—0,3 мкг/мл), *Staphylococcus spp.* (МИК ≤ 0,25—0,5 мкг/мл), *Streptococcus spp.* (МИК ≤ 0,25—0,5 мкг/мл), *T. pyogenes* (МИК ≤ 0,06 мкг/мл), *Leptospira spp.* (МИК ≤ 0,06 мкг/мл). Концентрация амоксициллина в крови КРС превышает значения МИК этих возбудителей до 30 ч после введения препарата и до 24 ч — в крови овец. Учитывая, что для исследуемого препарата предлагается интервал введения в 48 ч, это обеспечит $T > \text{МИК}$ не менее 50 % во время курса дачи препарата. К тому же, значения объема распределения позволяют предположить, что концентрации амоксициллина в тканях, после фазы распределения превышают концентрации в крови [8].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение фармакологического профиля комбинированного противомикробного лекарственного препарата «Амоксиантарь 150» позволило разра-

ботать оптимальную схему его применения, обеспечивающую абсорбцию, распределение и пролонгированное действие в организме КРС и овец для эффективной терапии широкого спектра заболеваний бактериальной этиологии и снижения темпов распространения антибиотикорезистентности.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Комаров А. А., Карабанов С. Ю., Макаров Д. А., Иванова О. Е., Богомазова А. Н., Курсанова Н. А., Рябова Е. С., Тимофеева И. А. Исследование устойчивости к антимикробным средствам зоонозных бактерий, выделенных от продуктивных животных и из пищевой и кормовой продукции // КМАХ. 2019. Т. 21. С. 37.
2. Bogomazova A., Gordeeva V., Krylova E., Soltynskaya I., Davydova E., Ivanova O., Komarov A. Mega-plasmid found worldwide confers multiple antimicrobial resistance in *Salmonella* Infantis of broiler origin in Russia // Inter. J. Food Microbio. 2020. V. 319. PP. 108—497.
3. Drlica K. The mutant selection window and antimicrobial resistance // J. Antimicrob. Chemother. 2003. V. 52. PP. 11—17.
4. Craig W. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of MICs and men // Clin. Infect. Dis. 1998. V. 26. PP. 1—10.
5. Lacy M. K., Lu W., Xu X., Tessier P., Nicolau D., Quintiliani R., Nightingale C. Pharmacodynamic comparisons of levofloxacin, ciprofloxacin, and ampicillin against *Streptococcus pneumoniae* in an in vitro model of infection // AntiMicrob. Agents. Chemother. 1999. V.43. PP. 672—677.
6. Turnidge J. D. The pharmacodynamics of beta-lactams // Clin. Infect. Dis. 1998. V. 27. PP. 10—22.
7. Веселов А. В. Амоксициллин / клавуланат: особенности фармакокинетики и фармакодинамики при терапии респираторных инфекций. Практическая пульмонология. 2008. № 4. С. 33—38.
8. Селимов Р. Н., Гончарова Е. Н., Комаров А. А., Енгашева Е. С., Енгашев С. В. Фармакокинетика и динамика выведения остаточных количеств амоксициллина при внутримышечном и подкожном введении овцам // Ветеринария. 2024. № 1. СС. 42—46.
9. Гончарова Е. Н., Габидуллина Д. Э., Селимов Р. Н., Коряковцев П. А., Карсакова Ю. В., Козлов С. В., Комаров А. А., Енгашева Е. С., Енгашев С. В., Уша Б. В., Глазмэдин И. Г., Удавлиев Д. И. ВЭЖХ—МС/МС определение амоксициллина в плазме крови с использованием дериватизации // Сорбционные и хроматографические процессы. 2022. Т. 22. № 6. С. 816—828.
10. Plumb D. C. (2011). Plumb's veterinary drug handbook. Stockholm, Wis: PharmaVet.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

А. А. Комаров — доктор биологических наук, профессор РАН, профессор кафедры ветеринарной медицины;
Е. Н. Гончарова — кандидат химических наук, заведующая лабораторией.

Статья поступила в редакцию 09.10.2024.

AGENTS FOR ZOOHYGIENE, DISINFECTION, DISINSECTIZATION AND DISINFESTATION

Original article
UDC 615.015.8

PHARMACOKINETIC PROFILE OF DRUGS AND ITS IMPORTANCE FOR REDUCING THE SPREAD OF ANTIBIOTIC RESISTANCE

Aleksandr Anatolyevich Komarov*, Elizaveta Nikolaevna Goncharova**

*Russian Biotechnological University, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-2799-6760>

**MIP Academy of Innovations, Moscow, Russia, akomarov1965@gmail.com,
<https://orcid.org/0000-0002-2207-3257>

Abstract. The study of amoxicillin pharmacokinetics in cattle and sheep after administration of the drug “Amoxiyantar 150” allowed to develop an optimal scheme of its application, providing absorption, distribution and prolonged action in the body of cattle and sheep for effective therapy of a wide range of diseases of bacterial etiology and reducing the rate of spread of antibiotic resistance. After intramuscular or subcutaneous administration of the drug to cattle and sheep, amoxicillin quickly enters the systemic bloodstream, already 15 minutes after intramuscular administration, the average concentration in plasma was 250—1139 ng/ml. Then the concentration of amoxicillin consistently increased, the time of onset of the maximum concentration was 2.3—3.8 hours. The concentration of amoxicillin in the blood of cattle exceeds the MIC values of many pathogens up to 30 hours after administration of the drug and up to 24 hours in the blood of sheep. Considering that the administration interval for the drug under study is 48 hours, this will ensure $T > MIC$ of at least 50 % during the course of drug administration.

Keywords: antibiotic resistance, pharmacokinetics, Amoksiyantar 150, amoxicillin, cattle, sheep

Absorption and distribution of veterinary drugs in combination with the dosing regimen determine their pharmacokinetic profile, as well as the concentration in the blood and the dynamics of distribution of active substances in target tissues. The relationship between the concentrations of the active substance in the blood of animals and the antibacterial effect is of greatest interest. In addition, the studies show significant differences in the antimicrobial activity of antibacterial drugs over time, which is an important factor determining effective dosing regimens.

Previously, the studies were conducted on the resistance of various bacteria to a wide range of antimicrobial drugs [1]. Using massive parallel sequencing technology, we identified large pESI plasmids in multi-drug-resistant *Salmonella infantis* isolates that provide multiple resistance to many antimicrobial drugs [2].

Active use of antimicrobial drugs causes a decrease in their efficacy due to antibiotic resistance. Therefore, before introducing such drugs to the market, it is important to establish optimal dosing regimens that will allow active substances to reach therapeutic concen-

trations that are higher than not only the minimum inhibitory concentrations (MIC), but also to maintain them at the level of the mutant prevention concentration (MPC) for a sufficient period of time to kill the maximum number of infectious agents. The mutant prevention concentration is the lowest concentration of antimicrobial drugs that can prevent the selection of mutating microorganisms in the population, which can be used to minimize the risks of antibiotic resistance [K. Drlica, 2003].

Such results can be achieved by studying the pharmacokinetics of the active substances of drugs for animals. The key pharmacokinetic parameters for solving the problem of antibiotic resistance will be the following [4].

- For time-dependent antimicrobial drugs with a minimally pronounced post-antibiotic effect (beta-lactams, macrolides, glycopeptides, etc.) the ratio of the time period (T) during which the concentration of the drug in the blood exceeds the MIC for a specific infectious agent, compared to the entire period between drug administrations, determined in % ($T > MIC$).

- For concentration-dependent antimicrobial drugs with a pronounced post-antibiotic effect (fluoroquinolones, aminoglycosides, nitroimidazoles, etc.) the ratio of the area under the pharmacokinetic curve (AUC) and MIC (AUC/MIC) and the maximum concentration of the drug (C_{max}) and MIC (C_{max}/MIC).

For example, the maximum efficacy of antibiotics such as ciprofloxacin, levofloxacin and ampicillin is achieved with an AUC/MIC value of 80 to 125 for gram-negative bacteria with a C_{max}/MIC of 8–10 [5], and for penicillins, the dose will be effective with a $T > \text{MIC}$ ratio of about 40 % to achieve a bactericidal concentration, and for cephalosporins — 65–75 % [6, 7]. Thus, the study of the pharmacokinetic profile of the active substances of drugs is an important part of research that allows choosing the optimal doses and routes of administration of the drug for the effective treatment of animals and reducing the rate of spread of antibiotic resistance.

MATERIAL AND METHODS

The drug under study was an innovative combined antimicrobial drug in the form of an injection suspension “Amoxiyantar 150”, designed as a result of the implementation of a comprehensive project on the topic Development of Innovative Means of Protecting the Health of Farm Animals and Their Introduction into Production, the main executor of which is the FSBEI HE “ROSBIOOTEKH”, and the industrial partner is the company LLC “NVC Agrovetzashchita S-P.” The competitive advantages of the designed drug lie in its unique composition, which has no analogues in our country and abroad due to the combination of a highly effective prolonged antimicrobial agent of a wide spectrum of action (amoxicillin) with a natural component of living cells (succinic acid), providing a more effective effect on microorganisms, being capable of forming biofilms by increasing the permeability of bacterial cell membranes and antioxidant action (reference to patent No. RU2786919 C1).

Animals

The study of the pharmacokinetics of amoxicillin was conducted on five 3-month-old Kholmogory calves and six 3-year-old Romanov sheep. All animals used in the study were clinically healthy.

When studying the pharmacokinetics of amoxicillin, control blood samples were taken from calves and sheep. After which the drug was administered intramuscularly or subcutaneously once at a dose of 15 mg of amoxicillin per 1 kg of animal body weight. After administration of the drug, blood samples were taken at 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 30, 48, 54,

72, 96, 120, 144, 192 and 264 h. Blood samples were placed into test tubes with lithium heparin, and plasma was separated by centrifugation, in which the content of active substances was subsequently determined [8].

Detection method

HPLC—MS/MS analysis was used to detect amoxicillin. Chromatographic separation was performed on a column with a reversed-phase sorbent Synergi Fusion-RP (50 mm x 2 mm; 4 μm, Phenomenex, USA). The mobile phases were a 0.5 % solution of formic acid in water and methanol. Separation was carried out in a gradient elution mode. The substance to be detected is a derivative obtained during sample preparation using pyrrolidine, having a molar mass of 436 g/mol. The final analyte is detected in the negative ionization mode with m/z 435.3, and upon fragmentation gives product ions with m/z 263.1, 357.2 and 340.1 [9].

STUDY RESULTS

For the purpose of assessing the pharmacokinetics of amoxicillin in cattle and sheep after intramuscular and subcutaneous administration, a 2-compartment pharmacokinetic model was used, which ensured good agreement between the predicted values of amoxicillin concentration in blood plasma and the actually measured ones. The applicability of the 2-compartment model is explained by the ability of amoxicillin to penetrate both tissues with very intensive metabolism (liver, kidneys) and tissues with less intensive metabolism (muscle, adipose tissue), which is additionally facilitated by the relatively low (17–20 %) degree of amoxicillin binding to plasma proteins [10].

After intramuscular (IM) or subcutaneous (SC) administration of the drug to cattle and sheep, amoxicillin quickly enters the systemic bloodstream. Already 15 minutes after intramuscular administration, the average plasma concentration was 250–1139 ng/ml. Then the concentration of amoxicillin consistently increased, the time to reach the maximum concentration was 2.3–3.8 h [8].

The apparent distribution volume V/F was 2.7–5.7 L/kg. High values of the distribution volume indicate that amoxicillin intensively penetrates organs and tissues from the blood. This is critically important, since for beta-lactam antibiotics, an important condition for the implementation of the antimicrobial effect is maintaining the concentration of the antibiotic at a level exceeding the MIC [7].

Amoxicillin is highly effective against common pathogens: *M. haemolytica* (MIC 0.1–0.2 μg/ml), *P. multocida* (MIC 0.18–0.3 μg/ml), *Staphylococcus* spp. (MIC ≤ 0.25–0.5 μg/ml), *Streptococcus* spp.

(MIC \leq 0.25—0.5 $\mu\text{g/ml}$), *T. pyogenes* (MIC \leq 0.06 $\mu\text{g/ml}$), *Leptospira* spp. (MIC \leq 0.06 $\mu\text{g/ml}$). The concentration of amoxicillin in the blood of cattle exceeds the MIC values of these pathogens for up to 30 hours, and for up to 24 hours in the blood of sheep after the drug administration. Considering that the administration interval for the drug under study is 48 hours, this will ensure $T > \text{MIC}$ of at least 50 % during the course of drug administration. In addition, the values of the distribution volume suggest that amoxicillin concentrations in tissues after the distribution phase exceed blood concentrations [8].

CONCLUSION

The study of the pharmacological profile of the combined antimicrobial drug “Amoxiyantar 150” made it possible to develop an optimal regimen for its use, ensuring absorption, distribution and prolonged action in the body of cattle and sheep for effective therapy of a wide range of diseases of bacterial etiology and reducing the rate of spread of antibiotic resistance.

REFERENCES

1. Komarov A. A., Karabanov S. Yu., Makarov D. A., Ivanova O. E., Bogomazova A. N., Kirsanova N. A., Ryabova E. S., Timofeeva I. A. Study of resistance to antimicrobial agents of zoonotic bacteria isolated from food-producing animals and from food and feed products // *KMAKh*. 2019. Vol. 21. P. 37.
2. Bogomazova A., Gordeeva V., Krylova E., Soltynskaya I., Davydova E., Ivanova O., Komarov A. Mega-plasmid found worldwide confers multiple antimicrobial resistance in *Salmonella* *Infantis* of broiler origin in Russia // *Inter. J. Food Microbio.* 2020. V. 319. P. 108—497.
3. Drlica K. The mutant selection window and antimicrobial resistance // *J. Antimicrob. Chemother.* 2003. V. 52. PP. 11—17.
4. Craig W. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of MICs and men // *Clin. Infect. Dis.* 1998. V. 26. PP. 1—10.
5. Lacy M. K., Lu W., Xu X., Tessier P., Nicolau D., Quintiliani R., Nightingale C. Pharmacodynamic comparisons of levofloxacin, ciprofloxacin, and ampicillin against *Streptococcus pneumoniae* in an in vitro model of infection // *Antimicrob. Agents. Chemother.* 1999. V.43. P. 672—677.
6. Turnidge J. D. The pharmacodynamics of beta-lactams // *Clin. Infect. Dis.* 1998. V. 27. P. 10—22.
7. Veselov A. V. Amoxicillin / clavulanate: features of pharmacokinetics and pharmacodynamics in the treatment of respiratory infections. *Prakticheskaya pulmonologiya (Practical pulmonology)*. 2008. No. 4. P. 33—38.
8. Selimov R. N., Goncharova E. N., Komarov A. A., Engasheva E. S., Engashev S. V. Pharmacokinetics and dynamics of elimination of residual amounts of amoxicillin after intramuscular and subcutaneous administration to sheep // *Veterinariya (Veterinary science)*. 2024. No. 1. P. 42—46.
9. Goncharova E. N., Gabidullina D. E., Selimov R. N., Koryakovtsev P. A., Karsakova Yu. V., Kozlov S. V., Komarov A. A., Engasheva E. S., Engashev S. V., Usha B. V., Glamazdin I. G., Udavliev D. I. HPLC—MS/MS determination of amoxicillin in blood plasma using derivatization // *Sorption and chromatographic processes*. 2022. Vol. 22. No. 6. P. 816—828.
10. Plumb D. C. (2011). *Plumb's veterinary drug handbook*. Stockholm, Wis: PharmaVet.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

A. A. Komarov — Doctor of Biological Sciences, Professor of the RAS, Professor of the Department of Veterinary Medicine;

E. N. Goncharova — Candidate of Chemical Sciences, Head of the Laboratory.

The article was submitted 09.10.2024.

Научная статья

УДК 619:618:14—002:636.2.034

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2024.4.82

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВНУТРИМАТОЧНЫХ СРЕДСТВ В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ПОСЛЕРОВОДОГО МЕТРИТА У МОЛОЧНЫХ КОРОВ

Владимир Николаевич Скориков

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, skorikov.75@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3135-5811>

Аннотация. В статье представлены результаты эффективности комплексных схем лечения послеродового метрита у молочных коров. Показано, что препарат Эндометрамаг-Грин[®], который в составе содержит интерферон альфа-2b и пропранолол, является наиболее эффективным средством. Его применение повышает неспецифическую резистентность организма подопытных животных, о чем свидетельствует повышение количества лимфоцитов, общих иммуноглобулинов и фагоцитарной активности лейкоцитов по сравнению с показателями других групп. Препарат положительно влияет на восстановительные процессы в матке, сокращает сроки лечения, что подтверждается наибольшим процентом выздоровевших животных (88,0 %) при снижении количества внутриматочных введений ($4,5 \pm 0,5$). Эндометрамаг-Грин[®] способствует повышению сократительной способности миометрия, активизации регенеративных процессов и снижению сроков инволюции матки, что обеспечило сокращение сервис-периода и коэффициента оплодотворения.

Ключевые слова: послеродовой метрит, терапия, Рихометрин, Эндометрамаг-Грин[®], неспецифическая резистентность, коровы

Современное развитие молочного животноводства в РФ базируется на использовании высокопродуктивных коров преимущественно зарубежной селекции и интенсивных технологиях эксплуатации [2, 3, 12]. Одной из наиболее важных проблем в условиях крупных ферм и комплексов, сдерживающих рентабельность отрасли, являются послеродовые заболевания, протекающие в форме острых метритов [1, 6, 11].

Многочисленные клинические наблюдения и статистические данные свидетельствуют о том, что по масштабу распространения послеродовая патология занимает лидирующие позиции и регистрируется у 30—70 % новотельных коров, вызывая нарушение воспроизводительной функции маточного поголовья, возникновение бесплодия и снижение темпов воспроизводства стада [2, 3, 11]. Несмотря на проводимые лечебные мероприятия проблема послеродовых метритов у коров в промышленном животноводстве не имеет тенденции к снижению [9].

Этиология послеродовых метритов тесно связана с инфекционными патогенами. Как правило, это убикваторные (повсеместно) распространен-

ные гноеродные микроорганизмы, патогенное действие которых проявляется при ослаблении защиты организма. В роли ведущего фактора, снижающего иммунологическую резистентность коров, выступают роды с неизбежной травмой половых путей. Именно родовая травма открывает ворота для проникновения инфекции в ткани матки. Кроме того, нарушение обмена веществ у животных является причиной иммунологической недостаточности [4, 7, 8, 9].

Инфекционный генез послеродовых метритов требует применения химиотерапевтических средств. Однако из-за роста лекарственной резистентности микроорганизмов, проводить эффективную антибиотикотерапию с каждым годом становится все труднее [5]. Кроме того, многие антибиотики проявляют токсичность, оказывают негативное влияние на печень и угнетающее действие на иммунитет. В этой связи, поиск эффективных противометритных средств и стратегий их применения являются актуальными задачами современного ветеринарного акушерства.

В настоящее время для профилактики и лечения послеродовых эндометритов у коров исполь-

зуют иммуномодуляторы, в частности, интерфероны. Одним из эффективных средств в линейке препаратов данного ряда является Эндометромаг-Грин®. В его состав входит интерферон альфа-2b, который оказывает иммуномодулирующее и неспецифическое антибактериальное действие, эффективен в отношении широкого спектра микроорганизмов, дрожжей, грибов и вирусов. Кроме того, Эндометромаг-Грин® повышает сократительную способность матки за счет пропранолола, не оказывает раздражающего действия на слизистую и способствует ее регенерации [12].

Цель работы — изучить терапевтическую эффективность препарата Эндометромаг-Грин® при послеродовом метрите у молочных коров и определить его влияние на их воспроизводительную способность.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Опыты проведены в 2021—2023 годах в хозяйствах Воронежской и Белгородской областей. Объектом исследований служили коровы красно- и черно-пестрой голштинизированных пород отечественной селекции в возрасте 6—8 лет с продуктивностью 6,5—7,0 тыс. кг молока в год. Хозяйства были благополучными по острым и хроническим инфекционным заболеваниям, животных регулярно вакцинировали против бактериальных и вирусных инфекций.

В результате проведенного клинико-акушерского обследования новотельных коров по принципу аналогов было сформировано 4 группы животных. Визуально определяли наличие гнойно-катальных или гнойных маточно-цервикальных выделений, особенно после ночного отдыха, обращали внимание на корки засохшего экссудата в области корня хвоста. Вагинальным исследованием устанавливали гиперемии влагалища, нарушение целостности слизистой оболочки, скопление гнойного экссудата на нижнем своде, степень раскрытия канала шейки матки и выделение из него экссудата. При трансректальном исследовании регистрировали реакцию матки на пальпацию, ее размеры, утолщение стенок и флюктуацию, отмечали вибрацию средних маточных артерий.

Для проведения ультразвукового исследования использовали сканер Easi-Scan-3 с ректальным линейным датчиком 7,5 МГц (Ирландия) с помощью которого визуализировали наличие и характер жидкости в полости матки, определяли размер слоев и контуры слизистой оболочки.

От заболевших животных был отобран экссудат из полости матки для проведения микробиологических исследований, в ходе которых выделяли микроорганизмы и определяли их чувствительность к антимикробным препаратам.

Животные первой группы ($n = 30$) служили в качестве отрицательного контроля и им препараты не назначали. Коровам второй группы ($n = 28$) вводили Биостимульгин подкожно в дозе 30,0 мл трехкратно с интервалом 24 часа; Магэстрофан® — внутримышечно в дозе 2,0 мл в 1-й и 10-й день; Тривитамин — внутримышечно в дозе 5,0 мл в 1-й и 10-й день; Рихометрин — внутриматочно в дозе 100 мл. Животным третьей группы ($n = 25$) аналогично применяли Биостимульгин, Магэстрофан®, Тривитамин и дополнительно назначали Эндометромаг-Грин® со 2-го по 6-й день в дозе 100,0 мл. Эффективность лечения оценивали по результатам акушерско-гинекологического исследования, учитывали количество выздоровевших животных и число введений препаратов, а также показатели воспроизводства (срок сервис-периода, коэффициент оплодотворения).

Перед началом и через 15 дней после окончания лечения от коров была получена кровь, морфологический состав которой определяли общепринятыми методами, содержание общего белка и его фракций — в соответствии с «Методическими рекомендациями по диагностике, терапии и профилактике нарушений обмена веществ у продуктивных животных» (Воронеж, 2005) [10], уровень общих иммуноглобулинов, бактерицидную (БАСК) и лизоцимную активность сыворотки крови (ЛАСК), показатели фагоцитарной активности лейкоцитов (ФАЛ, ФИ, ФЧ) — в соответствии с «Методическими рекомендациями по оценке и коррекции неспецифической резистентности животных» (Воронеж, 2005) [13]. Полученные цифровые данные обрабатывали с использованием метода вариационной статистики на персональном компьютере в программе Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из данных таблицы 1 следует, что эффективность терапии в первой группе составила 88,0 %, что превышало на 5,9 % показатель во второй группе и на 24,7 % в контрольной. При этом количество внутриматочных введений с использованием препарата Эндометромаг-Грин® было меньше на 10,0 % в сравнении с Рихометрином, а сроки выздоровления короче.

Таблица 1

Терапевтическая эффективность комплексного лечения послеродового метрита коров

Группа	Кол-во коров	Выздоровело		Кол-во введений	Коэффициент оплодотворения	Период от отела до оплодотворения, дни
		n	%			
Эндометраг-Грин®	25	22	88,0	4,5 ± 0,5	1,8 ± 0,2	75,2 ± 5,2
Рихометрин	28	23	82,1	5,0 ± 2,0	2,6 ± 0,5	94,8 ± 8,9
Контроль	30	19	63,3	—	3,5 ± 0,2	120,3 ± 8,7

У больных послеродовым метритом коров, которым внутриматочно вводили Эндометраг-Грин®, регистрировали более заметное уменьшение размеров матки и повышение ее сократительной способности, экссудат быстрее приобретал слизистый характер. Трансректальным исследованием установлено, что после завершения курса лечения матка находилась в тазовой полости, свободно помещалась в кисть руки, при массаже ощущался ее тонус, а размеры соответствовали норме. Цервикальные выделения отсутствовали или были слизистыми и прозрачными. В яичниках отмечали наличие фолликулов различного размера и желтых тел.

Показатели воспроизводительной способности животных свидетельствуют о том, что сервис-период у коров, которым применяли Эндометраг-

Грин®, был короче на 19,6 дней в сравнении с назначением Рихометрина, и на 45,1 день, чем у коров контрольной группы, а коэффициент оплодотворения был ниже на 30,8 % и в 1,9 раза соответственно.

После лечения в крови животных, которым применяли Рихометрин (табл. 2) в качестве этиотропного средства, по сравнению с контрольной группой установлено снижение количества лейкоцитов на 9,3 %, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов на 21,2 % ($P < 0,05$) и 11,6 %, в сыворотке крови — альбуминов на 17,3 % ($P < 0,05$) и α -глобулинов на 16,3 % ($P < 0,05$). При этом зафиксировано увеличение уровня γ -глобулинов на 25,9 % ($P < 0,05$), общих иммуноглобулинов на 31,5 % ($P < 0,05$), ЛАСК на 46,7 % ($P < 0,01$), а также эозинофилов в 2,7 раза ($P < 0,001$), ФЧ на 18,8 % ($P < 0,02$) и ФИ на 15,0 % ($P < 0,05$).

Таблица 2

Иммуно-биохимические показатели крови коров после лечения послеродового метрита

Показатели	Контрольная группа (n = 8)	Рихометрин (n = 10)	Эндометраг-Грин® (n = 10)
1	2	3	4
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	7,5 ± 0,4	6,8 ± 0,7	6,3 ± 0,5*
Нейтрофилы, %:			
палочкоядерные	3,3 ± 0,1	2,6 ± 0,3*	2,3 ± 0,2**
сегментоядерные	45,7 ± 2,0	40,4 ± 3,0	34,2 ± 2,8*
Эозинофилы, %	4,0 ± 0,5	10,7 ± 0,4**	4,2 ± 0,2
Моноциты, %	3,0 ± 0,1	2,8 ± 0,5	2,0 ± 0,2**
Лимфоциты, %	44,0 ± 3,8	43,5 ± 2,4	57,3 ± 3,4
ФАЛ, %	80,0 ± 2,8	84,8 ± 1,7	88,2 ± 0,4*
ФИ, м. к./акт.фагоцит	4,0 ± 0,2	4,6 ± 0,2*	5,1 ± 0,1**

Окончание табл. 2

1	2	3	4
ФЧ, м. к./фагоцит	3,2 ± 0,2	3,8 ± 0,1*	4,6 ± 0,1**
Общий белок, г/л	72,0 ± 5,5	80,2 ± 1,8	74,7 ± 2,3
Альбумины, %	44,5 ± 2,3	36,8 ± 2,7*	38,6 ± 0,9*
α-глобулины, %	12,3 ± 0,8	10,3 ± 0,3*	11,8 ± 0,5
β-глобулины, %	19,8 ± 0,9	22,4 ± 1,5	21,4 ± 0,4
γ-глобулины, %	23,2 ± 1,3	29,2 ± 2,5*	28,7 ± 0,7**
Общие Ig, г/л	16,8 ± 1,2	22,1 ± 2,2*	26,6 ± 0,8**
БАСК, %	81,4 ± 2,9	83,0 ± 2,4	88,5 ± 2,8
ЛАСК, мкг/мл	1,5 ± 0,1	2,2 ± 0,2*	2,4 ± 0,2*

* $P < 0,05—0,01$;** $P < 0,005—0,001$ — по сравнению с контрольной группой

У животных, которым внутриматочно вводили Эндометрамаг-Грин[®], отмечено уменьшение содержания лейкоцитов на 16,0 % ($P < 0,05$), моноцитов на 33,3 % ($P < 0,005$), палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов на 30,3 % ($P < 0,002$) и 25,2 % ($P < 0,01$), альбуминов на 13,3 % ($P < 0,05$) по сравнению с контролем. При этом отмечен рост числа лимфоцитов на 17,7 %, ФАЛ на 10,3 % ($P < 0,02$), ФЧ на 43,8 % ($P < 0,001$) и ФИ на 27,5 % ($P < 0,001$), а также концентрации γ-глобулинов на 23,7 % ($P < 0,005$), общих иммуноглобулинов на 58,6 % ($P < 0,001$) и ЛАСК в 1,6 раза ($P < 0,002$).

Следовательно, комплексная схема с внутриматочным введением препарата Эндометрамаг-Грин[®] обеспечила повышение эффективности терапии за счет повышения показателей неспецифической резистентности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, применение Эндометрамага-Грин[®] при лечении метрита оказало положительное влияние на организм коров, что подтверждается наибольшим процентом выздоровевших животных и сокращением сроков лечения по сравнению другими группами. Входящие в состав препарата компоненты обладают комбинированным иммуномодулирующим и неспецифическим антибактериальным действием, способствуют повышению сократительной способности миометрия. Внутриматочное вве-

дение Эндометрамага-Грин[®] способствовало повышению показателей неспецифической резистентности в крови у коров и ускорению восстановительных процессов в матке, что оказало положительное влияние на воспроизводительную способность животных: период от отела до оплодотворения и коэффициент оплодотворения были меньше, чем при использовании антимикробных препаратов и в группе отрицательного контроля.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Батраков А. Я. Проблемы воспроизводства крупного рогатого скота в стадах с высокой молочной продуктивностью / А. Я. Батраков // Матер. Всероссийской научно-методической конференции по акушерству. — Воронеж, 1994. — С. 32—33.
2. Войтенко Л. Г. Восстановление репродуктивной функции коров путем ликвидации симптоматического бесплодия / Л. Г. Войтенко, Т. И. Лапина, И. А. Головань [и др.] // Ветеринарная патология. — 2014. — № 3—4. — С. 24—31.
3. Джакупов И. Т. Послеродовые болезни и их диагностика у импортных коров в условиях Северного Казахстана / И. Т. Джакупов, Г. Т. Есжанова., А. Т. Кузурбаева // Ветеринария. — 2015. — № 7. — С. 47—50.
4. Еремин С. П. Развитие акушерско-гинекологических заболеваний при нарушении обменных процессов в организме коров / С. П. Еремин, Т. С. Безрукова, И. В. Яшин // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. — 2014. — № 3. — С. 61—64.

5. *Ильинский Е.В.* О некоторых последствиях лекарственной терапии, используемой в акушерско-гинекологической практике / Е. В. Ильинский // Тезисы международной конференции. — Рига, 1997. — С. 68—70.
6. *Коба И. С.* Усовершенствование комплексной фармакотерапии острого послеродового эндометрита бактериально-микозной этиологии у коров: автореферат дис. ... доктора ветеринарных наук: 16.00.07, 16.00.04 / Коба Игорь Сергеевич; [Место защиты: Кубан. гос. аграр. ун-т]. — Краснодар, 2009. — 48 с.
7. *Мищенко В. А.* Анализ нарушений обмена веществ у высокоудойных коров / В. А. Мищенко, А. В. Мищенко, И. В. Ермилов [и др.] // Ветеринария Кубани. — 2012. — № 6. — С. 15—17.
8. *Нежданов А. Г.* Метаболический дисбаланс как общепатологический фактор развития послеродового метрита у высокопродуктивных молочных коров / А. Г. Нежданов, С. В. Шабунин, В. В. Филин [и др.] // Ученые записки учреждения образования «Витебская орден «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». — 2017. — Т. 53, вып 2. — С. 111—115.
9. *Нежданов А. Г.* Современные тенденции и перспективные пути решения проблемы профилактики послеродовых заболеваний у животных / А. Г. Нежданов, К. А. Лободин // Актуальные проблемы ветеринарии в современных условиях: матер. Междунар. научно-практической конференции, посвящ. 60-летию ГНУ Краснодарского НИВИ. — Краснодар, 2006. — С. 363—366.
10. Методические рекомендации по диагностике, терапии и профилактике нарушений обмена веществ у продуктивных животных / М. И. Рецкий, А. Г. Шахов, В. И. Шушлебин [и др.]. — Воронеж: Издательство Истоки, 2005. — 94 с.
11. *Турченко А. Н.* Разработка и усовершенствование лечебно-профилактических мероприятий при остром послеродовом эндометрите у коров: автореферат дис. ... доктора ветеринарных наук: 16.00.07, 16.00.04. — Воронеж, 1999. — 48 с.
12. *Хлопицкий В. П.* Эндометрамаг-Грин-современная профилактика и лечение коров с послеродовой патологией без ограничения по молоку / В. П. Хлопицкий, В. Н. Скорилов, В. И. Михалев // Ветеринария. — 2017. — № 7. — С. 35—37.
13. Методические рекомендации по оценке и коррекции неспецифической резистентности животных / А. Г. Шахов, Ю. Н. Бригадилов, А. И. Ануфриев [и др.]. — Воронеж: Издательство Истоки, 2005. — 62 с.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ

В. Н. Скорилов — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник.

Статья поступила в редакцию 05.11.2024.

Original article

UDC 619:618:14—002:636.2.034

COMPARATIVE EFFICACY OF INTRAUTERINE REMEDIES IN COMPLEX THERAPY OF POSTPARTUM METRITIS IN DAIRY COWS

Vladimir Nikolaevich Skorikov

*All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy,
Voronezh, Russia, skorikov.75@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3135-5811>*

Abstract. The article presents the results of the efficacy of complex treatment regimens for postpartum metritis in dairy cows. It is shown that the drug Endometramag-Green[®], which contains interferon alpha-2b and propranolol, is the most effective remedy. Its use increases the non-specific resistance of the experimental animals, as evidenced by an increase in the number of lymphocytes, total immunoglobulins and leukocyte phagocytic activity, compared to the indicators of other groups. The drug has a positive effect on the recovery processes in the uterus, reduces the duration of treatment, which is confirmed by the highest percentage of recovered animals (88.0 %) with a decrease in the number of intrauterine injections (4.5 ± 0.5). Endometramag-Green[®] helps to increase the contractility of the myometrium, activate regenerative processes and reduce the timing of uterine involution, which ensures a reduction in the service period and the fertilization rate.

Keywords: postpartum metritis, therapy, Richometrin, Endometramag-Green[®], non-specific resistance, cows

Modern development of dairy cattle husbandry in the Russian Federation is based on the use of high yielding cows, mainly of foreign selection, and intensive exploitation technologies [2, 3, 12]. One of the most important problems in the conditions of large farms and complexes, which restrain the profitability of the industry, are postpartum diseases, occurring in the form of acute metritis [1, 6, 11].

Numerous clinical observations and statistical data indicate that in terms of the scale of distribution, postpartum pathology occupies a leading position and is recorded in 30—70 % of newly calved cows, causing a violation of the reproductive function of the breeding stock, the occurrence of infertility and a decrease in the rate of herd reproduction [2, 3, 11]. Despite the treatment measures taken, the problem of postpartum metritis in cows in industrial animal husbandry does not tend to decrease [9].

The etiology of postpartum metritis is closely related to infectious pathogens. As a rule, these are ubiquitous pyogenic microorganisms, the pathogenic effect of which manifests itself when the body's defenses are weakened. The leading factor that reduces the immunological resistance of cows is calving with inevitable trauma to the genital tract. It is the birth trauma that opens the gates for infection to penetrate the uter-

ine tissue. In addition, metabolic disorders in animals are the cause of immunological deficiency [4, 7, 8, 9].

The infectious genesis of postpartum metritis requires the use of chemotherapeutic agents. However, due to the growth of drug resistance of microorganisms, it is becoming increasingly difficult to carry out effective antibiotic therapy every year [5]. In addition, many antibiotics are toxic, have a negative effect on the liver and a depressing effect on the immune system. In this regard, the search for effective anti-metritis agents and strategies for their use are urgent tasks of modern veterinary obstetrics. Currently, immunomodulators, in particular interferons, are used to prevent and treat postpartum endometritis in cows. One of the effective agents in the line of drugs in this series is Endometramag-Green[®]. It contains interferon alpha-2b, which has an immunomodulatory and non-specific antibacterial effect, is effective against a wide range of microorganisms, yeast, fungi and viruses. In addition, Endometramag-Green[®] increases the contractility of the uterus due to propranolol, does not irritate the mucous membrane and promotes its regeneration [12].

The objective of the work is to study the therapeutic efficacy of Endometramag-Green[®] in case of postpartum metritis in dairy cows and determine its effect on their reproductive capacity.

MATERIAL AND METHODS

The experiments were conducted in 2021—2023 on the farms in Voronezh and Belgorod regions. The objects of the research were cows of Red-Motley and Black-Motley Holsteinized breeds of domestic selection aged 6—8 years with a productivity of 6.5—7.0 tns kg of milk per year. The farms were free from acute and chronic infectious diseases, the animals were regularly vaccinated against bacterial and viral infections.

As a result of the clinical and obstetric examination of newly calved cows, 4 groups of animals were formed according to the principle of analogues. The presence of purulent-catarrhal or purulent uterine-cervical discharge was visually determined, especially after a night's rest, attention was paid to crusts of dried exudate in the area of the tail root. Vaginal examination revealed vaginal hyperemia, disruption of the mucous membrane integrity, accumulation of purulent exudate on the lower fornix, the degree of opening of the cervical canal and the release of exudate from it. Transrectal examination recorded the uterine response to palpation, its size, thickening of the walls and fluctuation, and there was noted vibration of the middle uterine arteries.

To conduct the ultrasound examination, an Easi-Scan-3 scanner with a 7.5 MHz rectal linear sensor (Ireland) was used, with the help of which the presence and nature of fluid in the uterine cavity were visualized, the size of the layers and the contours of the mucous membrane were determined.

Exudate from the uterine cavity of the sick animals was collected for microbiological studies, during which microorganisms were isolated and their sensitivity to antimicrobial drugs was determined.

The animals of the first group ($n = 30$) served as a negative control and were not given any remedies. The cows of the second group ($n = 28$) were given Biostimulgin subcutaneously at a dose of 30.0 ml three times with an interval of 24 hours; Magestrofan® — intramuscularly at a dose of 2.0 ml on days 1 and 10;

Trivitamin — intramuscularly at a dose of 5.0 ml on days 1 and 10; Richometrin — intrauterine administration at a dose of 100 ml. The animals of the third group ($n = 25$) were similarly given Biostimulgin, Magestrofan®, Trivitamin and were additionally given Endometramag-Green® from the 2nd to the 6th day at a dose of 100.0 ml.

The efficacy of the treatment was assessed based on the results of the obstetric and gynecological examination, taking into account the number of recovered animals and the number of drug administrations, as well as reproduction indicators (service period, fertilization rate).

Before the treatment onset and 15 days after its termination, blood was obtained from the cows, the morphological composition of which was determined by generally accepted methods, the content of total protein and its fractions — in accordance with the Methodological Recommendations for the Diagnosis, Therapy and Prevention of Metabolic Disorders in Productive Animals (Voronezh, 2005) [10], the level of total immunoglobulins, serum bactericidal (SBA) and lysozyme activity (SLA), indicators of leukocyte phagocytic activity of (LPA, PhI, PhN) — in accordance with the Methodological Recommendations for the Assessment and Correction of Non-Specific Resistance of Animals (Voronezh, 2005) [13]. The obtained digital data were processed using the method of variation statistics on a personal computer in the Microsoft Excel program.

STUDY RESULTS AND DISCUSSION

From the data in Table 1 it follows that the efficacy of therapy in the first group was 88.0 %, which was by 5.9 % higher than in the second group and by 24.7 % higher than in the control group. At the same time, the number of intrauterine injections using Endometramag-Green® was by 10.0 % lower, compared to Richometrin, and the recovery period was shorter.

Table 1

Therapeutic efficacy of complex treatment of postpartum metritis in cows

Group	Number of cows	Recovered		Number of administrations	Fertilization rate	Period from calving to fertilization, d
		n	%			
Endometramag-Green®	25	22	88.0	4.5 ± 0.5	1.8 ± 0.2	75.2 ± 5.2
Richometrin	28	23	82.1	5.0 ± 2.0	2.6 ± 0.5	94.8 ± 8.9
Control	30	19	63.3	—	3.5 ± 0.2	120.3 ± 8.7

In cows with postpartum metritis, who were administered Endometramag-Green® intrauterinely, a more noticeable decrease in the size of the uterus and an increase in its contractility were recorded, the exudate acquired a mucous character faster. Transrectal examination established that after the treatment termination, the uterus was in the pelvic cavity, freely placed in the hand, its tone was felt during massage and the size corresponded to the norm. Cervical discharge was absent or was mucous and transparent. The presence of follicles of various sizes and corpora lutea were noted in the ovaries.

The indicators of the reproductive capacity of animals indicate that the service period in the cows who were administered Endometramag-Green® was shorter by 19.6 days, compared to the appointment of

Richometrin, and by 45.1 days than in the cows of the control group, and the fertilization rate was lower by 30.8 % and 1.9 times, respectively.

After treatment, in the blood of animals that were administered Richometrin (Table 2) as an etiotropic agent, compared to the control group, there was a decrease in the number of leukocytes by 9.3 %, stab and segmented neutrophils — by 21.2 % ($P < 0.05$) and 11.6 %; in the blood serum, albumins — by 17.3 % ($P < 0.05$) and α -globulins — by 16.3 % ($P < 0.05$). There was also recorded an increase in the level of γ -globulins by 25.9 % ($P < 0.05$), total immunoglobulins — by 31.5 % ($P < 0.05$), SLA — by 46.7 % ($P < 0.01$), as well as eosinophils — by 2.7 times ($P < 0.001$), PhN — by 18.8 % ($P < 0.02$) and PhI — by 15.0 % ($P < 0.05$).

Table 2

Blood immunobiochemical indicators in cows after treatment of postpartum metritis

Indicators	Control group ($n = 8$)	Richometrin ($n = 10$)	Endometramag-Green® ($n = 10$)
Leukocytes, $10^9/L$	7.5 ± 0.4	6.8 ± 0.7	$6.3 \pm 0.5^*$
Neutrophils, %:			
stab	3.3 ± 0.1	$2.6 \pm 0.3^*$	$2.3 \pm 0.2^{**}$
segmented	45.7 ± 2.0	40.4 ± 3.0	$34.2 \pm 2.8^*$
Eosinophils, %	4.0 ± 0.5	$10.7 \pm 0.4^{**}$	4.2 ± 0.2
Monocytes, %	3.0 ± 0.1	2.8 ± 0.5	$2.0 \pm 0.2^{**}$
Lymphocytes, %	44.0 ± 3.8	43.5 ± 2.4	57.3 ± 3.4
LPA, %	80.0 ± 2.8	84.8 ± 1.7	$88.2 \pm 0.4^*$
PhI, m. c./act.phagocyte	4.0 ± 0.2	$4.6 \pm 0.2^*$	$5.1 \pm 0.1^{**}$
PhN, m. c./phagocyte	3.2 ± 0.2	$3.8 \pm 0.1^*$	$4.6 \pm 0.1^{**}$
Total protein, g/L	72.0 ± 5.5	80.2 ± 1.8	74.7 ± 2.3
Albumins, %	44.5 ± 2.3	$36.8 \pm 2.7^*$	$38.6 \pm 0.9^*$
α -globulins, %	12.3 ± 0.8	$10.3 \pm 0.3^*$	11.8 ± 0.5
β -globulins, %	19.8 ± 0.9	22.4 ± 1.5	21.4 ± 0.4
γ -globulins, %	23.2 ± 1.3	$29.2 \pm 2.5^*$	$28.7 \pm 0.7^{**}$
Total Ig, g/L	16.8 ± 1.2	$22.1 \pm 2.2^*$	$26.6 \pm 0.8^{**}$
SBA, %	81.4 ± 2.9	83.0 ± 2.4	88.5 ± 2.8
SLA, $\mu g/ml$	1.5 ± 0.1	$2.2 \pm 0.2^*$	$2.4 \pm 0.2^*$

* $P < 0.05$ —0.01;

** $P < 0.005$ —0.001 — compared to the control group

In the animals who were administered Endometramag-Green® intrauterinely, there was observed a decrease in the content of leukocytes by 16.0 % ($P < 0.05$), monocytes — by 33.3 % ($P < 0.005$), stab and segmented neutrophils — by 30.3 % ($P < 0.002$) and 25.2 % ($P < 0.01$), albumins — by 13.3 % ($P < 0.05$), compared to the control. In this case, there was an increase in the number of lymphocytes by 17.7 %, LPA — by 10.3 % ($P < 0.02$), PhN — by 43.8 % ($P < 0.001$) and PhI — by 27.5 % ($P < 0.001$), as well as the concentration of γ -globulins — by 23.7 % ($P < 0.005$), total immunoglobulins — by 58.6 % ($P < 0.001$) and SLA — by 1.6 times ($P < 0.002$). Therefore, the complex regimen with intrauterine administration of Endometramag-Green® ensured an increase in the efficacy of therapy due to an increase in the indicators of non-specific resistance.

CONCLUSION

Thus, the use of Endometramag-Green® in the treatment of metritis had a positive effect on the body of cows, which was confirmed by the highest percentage of recovered animals and a reduction in the treatment period, compared to other groups. The components of the drug have a combined immunomodulatory and non-specific antibacterial effect, contribute to an increase in the contractility of the myometrium. Intrauterine administration of Endometramag-Green® contributed to an increase in non-specific resistance in the blood of cows and an acceleration of recovery processes in the uterus, which had a positive effect on the reproductive capacity of animals: the period from calving to fertilization and the fertilization rate were lower than when using antimicrobial drugs and in the negative control group.

REFERENCES

1. *Batnikov A. Ya.* Problems of cattle reproduction in herds with high milk yield / A. Ya. Batnikov // Mat. of the All-Russian scientific and methodological conference on obstetrics. — Voronezh, 1994. — P. 32—33.
2. *Voytenko L. G.* Restoration of the reproductive function of cows by eliminating symptomatic infertility / L. G. Voytenko, T. I. Lapina, I. A. Golovan [et al.] // Veterinarnaya patologiya (Veterinary pathology). — 2014. — No. 3—4. — P. 24—31.
3. *Dzhakupov I. T.* Postpartum diseases and their diagnosis in imported cows in the conditions of the Northern Kazakhstan / I. T. Dzhakupov, G. T. Eszhanova., A. T. Kuzerbaeva // Veterinariya (Veterinary science). — 2015. — No. 7. — P. 47—50.
4. *Eremin S. P.* Development of obstetric and gynecological diseases in case of metabolic disorders in cows / S. P. Eremin, T. S. Bezrukova, I. V. Yashin // Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii (Normative-legal regulatory issues in veterinary medicine). — 2014. — No. 3. — P. 61—64.
5. *Ilinskiy E. V.* On some consequences of drug therapy used in obstetric and gynecological practice / E. V. Ilinskiy // Abstracts of the international conference. — Riga, 1997. — P. 68—70.
6. *Koba I. S.* Improvement of complex pharmacotherapy of acute postpartum endometritis of bacterial-mycotic etiology in cows: abstract of a thesis ... Doctor of Veterinary Sciences: 16.00.07, 16.00.04 / Koba Igor Sergeevich; [Place of defense: Kuban state agrarian University]. — Krasnodar, 2009. — 48 p.
7. *Mishchenko V. A.* Analysis of metabolic disorders in high-yielding cows / V. A. Mishchenko, A. V. Mishchenko, I. V. Ermilov [et al.] // Veterinariya Kubani (Veterinary Science of Kuban). — 2012. — No. 6. — P. 15—17.
8. *Nezhdanov A. G.* Metabolic imbalance as a general pathological factor in the development of postpartum metritis in high yielding dairy cows / A. G. Nezhdanov, S. V. Shabunin, V. V. Filin [et al.] // Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya Vitebskaya ordena Znak pocheta gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsiny (Transactions of the educational establishment Vitebsk Order "Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine). — 2017. — Vol. 53, issue 2. — Pp. 111—115.
9. *Nezhdanov A. G.* Modern trends and promising ways to solve the problem of postpartum diseases prevention in animals / A. G. Nezhdanov, K. A. Lobodin // Actual problems of veterinary medicine in modern conditions: Mat. of International scientific and practical conference dedicated to the 60th anniversary of SSI Krasnodar Research Institute of Veterinary Medicine. — Krasnodar, 2006. — P. 363—366.
10. Methodological recommendations for the diagnosis, therapy and prevention of metabolic disorders in productive animals / M. I. Retskiy, A. G. Shakhov, V. I. Shushlebin [et al.]. — Voronezh: Istoki Publishing House, 2005. — 94 p.
11. *Turchenko A. N.* Development and improvement of treatment and preventive measures for acute postpartum endometritis in cows: abstract of a thesis ... Doctor of Veterinary Sciences: 16.00.07, 16.00.04. — Voronezh, 1999. — 48 p.
12. *Khlopitskiy V. P.* Endometramag-Green — modern prevention and treatment of cows with postpartum pathology without milk restriction / V. P. Khlopitskiy, V. N. Skorikov, V. I. Mikhalev // Veterinariya (Veterinary Science). — 2017. — No. 7. — P. 35—37.
13. Methodological recommendations for the assessment and correction of non-specific resistance of animals / A. G. Shakhov, Yu. N. Brigadirov, A. I. Anufriev [et al.]. — Voronezh: Istoki Publishing House, 2005. — 62 p.

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

V. N. Skorikov — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Scientific Associate.
The article was submitted 05.11.2024.

Научная статья

УДК 579.843.2

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2024.4.91

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКА «ЦЕЛЛОБАКТЕРИН®-Т» НА УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ЦИТОКИНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-6 И ИММУННОГО СТАТУСА КАРПА ОБЫКНОВЕННОГО ПРИ АЭРОМОНОЗЕ

Николай Алексеевич Стрельников*, Евгений Владимирович Михайлов**,
Михаил Юрьевич Сыромятников***, Елизавета Дмитриевна Бакулина****,
Елена Владимировна Семенова*****, Петр Васильевич Мирошниченко*****,
Виктория Михайловна Басанкина*****

*Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, strelnikov.nickolay@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0781-7713>

**Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5457-1325>

***Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия; Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-9028-0613>

****Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, <https://orcid.org/0009-0008-4802-020X>

*****Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия; Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3675-5467>

*****Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии, Краснодар, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5835-1159>

*****Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии, Краснодар, Россия, <https://orcid.org/0009-0004-6184-7202>

Аннотация. В статье представлены результаты исследования влияния пробиотика «Целлобактерин®-Т» на экспрессию гена цитокина интерлейкина-6 у карпа обыкновенного (*Cyprinus carpio*) при инфекциях, вызванных *Aeromonas hydrophila*. Для этого исследуемых рыб разделили на 2 группы, опытную ($n = 600$), которой давали основной рацион с добавлением пробиотика «Целлобактерин®-Т» в количестве 5 кг/тону корма, и контрольную ($n = 600$), получавшую лишь основной рацион. Полученные в ходе исследования результаты применения пробиотика «Целлобактерин®-Т» показали значительное снижение уровня экспрессии провоспалительного цитокина ИЛ-6 по сравнению с контрольной группой: на 14-е сутки экспрессия снизилась на 77,1 %, а на 30-е сутки наблюдалось снижение в 4,2 раза по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует о снижении воспалительных процессов. Такие изменения, которые, вероятно, происходят благодаря бактериям *Bacillus subtilis*, входящих в состав пробиотика «Целлобактерин®-Т», способствуют активации макрофагов, которые, в свою очередь, индуцируют работу как про-, так и противовоспалительных цитокинов. Кроме того, было показано, что «Целлобактерин®-Т» оказывает нормализующее действие на неферментативное звено антиоксидантной системы карпа обыкновенного, ингибируя процессы ПОЛ и повышая активность неферментативного звеньев системы АОЗ.

Ключевые слова: экспрессия генов, аэромоназ, карп обыкновенный, интерлейкин-6, пробиотик, иммунный статус, неферментативное звено

ВВЕДЕНИЕ

За последние десять лет рыбоводство в России заняло одну из главенствующих позиций в сельском хозяйстве. Однако из-за несоблюдения норм питания и содержания гидробионтов у них возникают алиментарные заболевания, наносящие значительный ущерб. Алиментарные заболевания приводят к ослаблению иммунитета и способности сопротивляться болезням и рыба становится восприимчивой к различным бактериям и вирусам [1, 2]. Аэромоноз, вызываемый бактериями рода *Aeromonas*, представляет собой серьезную проблему в аквакультуре. Наиболее часто встречающимся патогеном является *Aeromonas hydrophila*, который вызывает инфекции у рыб и других водных организмов [3]. Данное заболевание встречается повсеместно, нанося рыбоводческим хозяйствам значительный экономический ущерб, который складывается на 70 % из потерь от гибели поголовья и значительных затрат на оздоровление рыбоводных хозяйств. На данный момент имеются убедительные свидетельства о патогенезе и воздействии *Aeromonas hydrophila* на иммунную систему и обмен веществ карпа обыкновенного [3—5].

У костистых рыб ИЛ-6 играет важную роль в гуморальном иммунитете рыб, он стимулирует дифференциацию В-клеток и выработку антител, а также увеличивает экспрессию общего и специфического IgM [6]. Его центральная роль в иммунитете также объясняется тем, что он действует как провоспалительный агент в ответ на микробные инфекции и паразитов, способствуя таким процессам в организме, как реакции острой фазы, кроветворение и дифференциация иммунных клеток [7, 8]. Также интерлейкин-6 способствует росту макрофагов, повышению их соотношения с популяцией CD4 + Т-клеток в почке и их дифференциации, стимулируя экспрессию факторов транскрипции GATA3 и C—MAF. В свою очередь, интерлейкин-6 подвержен влиянию витаминов, таких как С и Е, вследствие чего они могут подавлять выработку цитокина, в частности, в плазме крови [8, 9].

Цель исследований: изучить уровень экспрессии провоспалительного цитокина интерлейкина-6 и иммунного статуса карпа обыкновенного при аэромонозе с применением пробиотика «Целлобактерин®-Т».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования были выполнены на базе ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии» в лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики и в лаборатории молекулярно-генетического анализа. Объектом исследования служили особи-годовики карпа обыкновенного массой 800—900 грамм. Отбор материала проводился на базе АО «Рыбопитомник» ГО Нововоронеж Воронежской области. Материалом для исследования была печень карпа обыкновенного (*Cyprinus carpio*).

При фоновом исследовании и в период опыта с пробиотиком «Целлобактерин-Т» был отобран биологический материал от карпа всех исследуемых групп. При микробиологическом исследовании кишечника был обнаружен возбудитель аэромоноза — *Aeromonas hydrophila*. После проведенных фоновых исследований и постановки диагноза гидробионты были разделены на две группы: особи первой группы (контрольный пруд) ($n = 600$) получали основной рацион, гидробионты второй группы ($n = 600$) получали в течение 30 дней основной рацион с добавлением пробиотического препарата «Целлобактерин-Т» в дозировке 5 кг/тонну. Убой и отбор материала производился в 2 этапа: через 14 суток после начала эксперимента с добавлением пробиотика «Целлобактерин-Т», второй — через 30 дней после начала исследований.

Оценка экспрессии генов карпа обыкновенного проходила посредством ПЦР-анализа с добавлением красителя SYBR Green и с использованием специфичных праймеров для гена интерлейкина-6 и бета-актина (референсный ген) (табл. 1). Выделение РНК осуществлялось набором «РНК-Экстран» (Синтол, Россия) согласно инструкции. Оценку качества выделенной РНК производили с помощью электрофореза в 2 % агарозном геле. Полимеразная цепная реакция проводилась на приборах Bio-Rad CFX 96 (Bio-rad, США) и Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия) с готовой коммерчески доступной смесью для ПЦР 5X qPCRmix-HS LowROX (Евроген, Россия).

Определение показателей ПОЛ-АОЗ проведено в соответствии с «Методическими положениями по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты» (2010), а определение количества лизоцимной активности сыворотки крови (ЛАСК), общих иммуноглобулинов (ИГ) и циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) проведено в соответствии с «Методическими рекомендациями по оценке и коррекции иммунного статуса животных».

Определение показателей ПОЛ-АОЗ проведено в соответствии с «Методическими положениями по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты» (2010), а определение количества лизоцимной активности сыворотки крови (ЛАСК), общих иммуноглобулинов (ИГ) и циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) проведено в соответствии с «Методическими рекомендациями по оценке и коррекции иммунного статуса животных».

Таблица 1

Список праймеров для ПЦР в реальном времени

Исследуемый ген	Последовательность праймеров
β -Actin	F: GTACGTTGCCATCCAGGCTGTG R: ACGTCACACTTCATGATGGAGTTGAAG
Fish IL-6	F: GATTGGTACAACGAAGAAGA R: GCATGACCCATATATGACCCA

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЯ

При фоновом и опытном исследованиях, на 14-е сутки применения пробиотика «Целлобактерин-Т», экспрессия гена интерлейкина-6 была наибольшей в фоновом исследовании: она была выше контрольной группы на 30,6 % и выше опытной группы в 2,3 раза. По сравнению с группой контроля, у особей опытной группы экспрессия интерлейкина-6 снизилась на 77,1 %. Разница между фоновым исследованием и группой контроля на 14-е сутки может быть обусловлена разным уровнем бактериальной нагрузки в данные периоды времени и, соот-

ветственно, разной интенсивностью компенсаторных реакций иммунного ответа. Интерлейкин-6 индуцирует процессы воспаления путем координации врожденных и приобретенных иммунных реакций. Понижение активности данного цитокина может быть связано со снижением воспалительных процессов благодаря тому, что пробиотик способствовал уменьшению воспалительного процесса и общего уровня стресса иммунной системы, вследствие чего бактерии *Bacillus subtilis* могли стимулировать иммунный ответ и снизить повреждающий эффект процессов острой фазы воспаления (рис. 1).

IL-6 (14-е сутки)

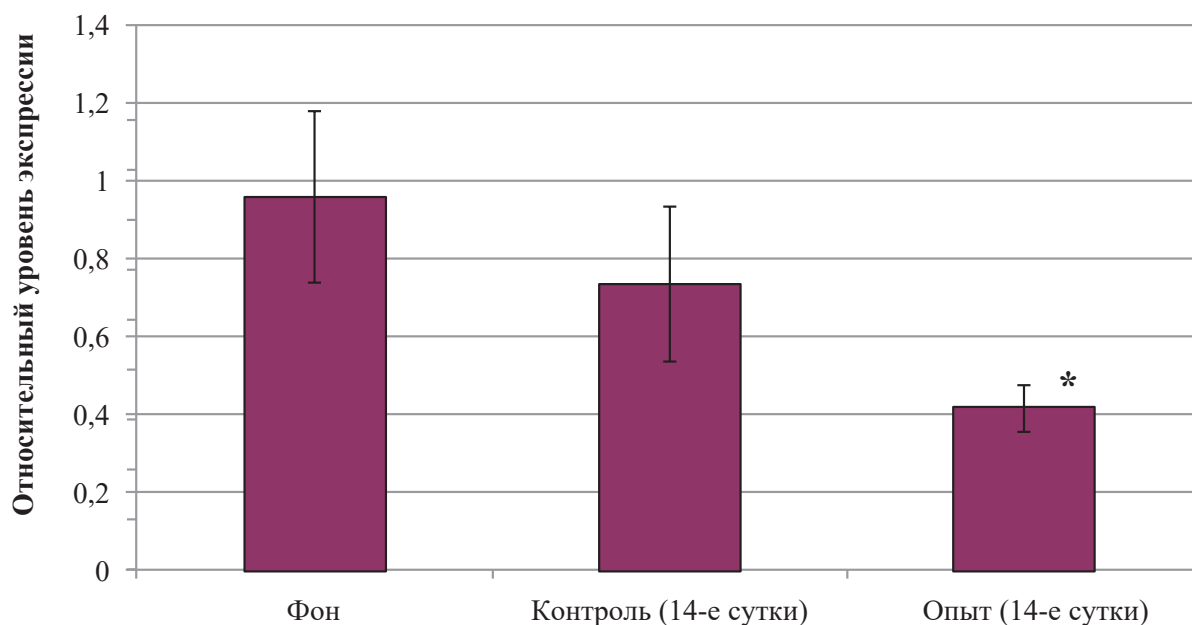


Рис. 1. Уровень экспрессии гена IL-6 у карпа обыкновенного фоновой, контрольной и опытной групп на 14-е сутки применения пробиотика

* при $p < 0,05$ относительно контрольной группы

На 30-е сутки применения пробиотика «Целлобактерин-Т» эффект был еще более выраженным: уровень экспрессии гена интерлейкина-6 в опыт-

ной группе снизился в 4,2 раза, что свидетельствует о повышении эффективности пробиотика в зависимости от длительности курса применения.

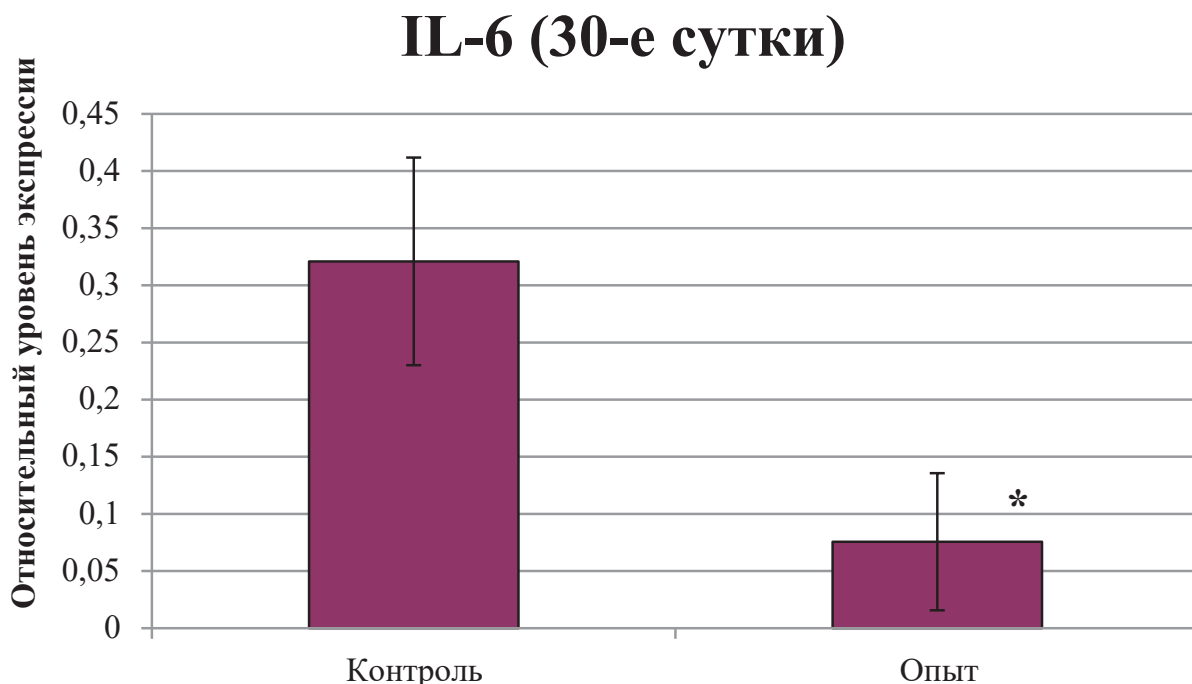


Рис. 2. Уровень экспрессии IL-6 у карпа обыкновенного на 30-е сутки применения пробиотика
* при $p < 0,05$ относительно контрольной группы

Высокий уровень провоспалительного цитокина IL-6 может объясняться тем, что при бактериологическом исследовании водной среды у рыб были обнаружены бактерии *Aeromonas hydrophila*, которые являются возбудителями аэромоноза. Снижение его уровня экспрессии в опытной группе (где применялся пробиотик) может свидетельствовать о том, что пробиотик способствовал «разгрузке» иммунной системы от постоянного естественного стресса для организма. Пробиотик на основе *Bacillus subtilis* может взаимодействовать со специфическим иммунитетом, вызывая активацию и пролиферацию Т- и В-лимфоцитов, что

способствует повышению содержания иммуноглобулинов класса М. Это подтверждается кратным снижением уровня экспрессии IL-6 в опытной группе, по сравнению с контрольной. Этот же тезис актуален в контексте неспецифического иммунитета. *Bacillus subtilis* способствуют активации макрофагов, которые, в свою очередь, индуцируют работу как про-, так и противовоспалительных цитокинов [8, 9].

Кроме того, было выявлено положительное влияние пробиотика «Целлобактерин-Т» на иммунологические показатели и неферментативное звено ПОЛ-АОЗ у карпа обыкновенного (табл. 2 и 3).

Таблица 2

Результаты иммунологических показателей карпов

Показатель	Фоновое исследование	14-е сутки		30-е сутки	
		Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
ЛАСК, мкг/мл	1,16 ± 0,06	1,23 ± 0,06	1,42 ± 0,07	1,27 ± 0,06	1,53 ± 0,07
ЦИК, мг/мл	0,18 ± 0,05	0,29 ± 0,10	0,12 ± 0,05	0,19 ± 0,10	0,10 ± 0,05
Общие ИГ, мг/мл	1,42 ± 3,23	2,42 ± 1,19	6,24 ± 1,19*	2,31 ± 1,21	8,95 ± 1,19*

* $p < 0,05$ по отношению фонового исследования

Таблица 3

Неферментативное звено ПОЛ-АОЗ

Показатель	Фоновое исследование	14-е сутки		30-е сутки	
		Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Витамин А, мкМ/л	1,20 ± 0,11	1,01 ± 0,06**	3,14 ± 1,28*	1,45 ± 1,14*	3,64 ± 1,44*
Витамин Е, мкМ/л	11,13 ± 3,59	10,17 ± 3,22	13,64 ± 5,05	15,33 ± 3,09	16,37 ± 5,29
Витамин С, мкМ/л	9,84 ± 1,92	12,39 ± 2,21	14,81 ± 1,78*	11,91 ± 2,04	17,60 ± 2,12

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ относительно фонового исследования

По результатам иммунологического исследования сыворотки крови было выявлено, что концентрация показателя ЛАСК на 14-е сутки применения пробиотика увеличилась на 5,2 %, а на 30-е сутки снизилась на 7,4 %. Показатель циркулирующих иммунных комплексов снизился в группе применения пробиотика «Целлобактерин-Т» на 14-е сутки на 82,3 %, но на 30-е сутки увеличился на 51,5 %. Интоксикация, развивающаяся при острых воспалительных заболеваниях в желчевыводящих путях, нарушает функционирование иммунной системы, что проявляется в уменьшении количества циркулирующих клеточных элементов. При определении концентрации общих ИГ было отмечено, что в группе рыб, применяемым пробиотик было снижение в 2,5 раза на 14-е сутки и на 30-е сутки на 65,3 % [10—12].

На 14-е сутки концентрация витамина А у контрольной группы составил $1,0 \pm 0,06$ (при $p < 0,05$) и была ниже значений опытной группы и фонового исследования в 2,12 раза и на 20,23 % соответственно. На 30-е сутки показатель витамина А у опытной группы составил $3,6 \pm 1,44$ (при $p < 0,05$) и был выше значения контрольной группы на 40,32 %. Показатель витамина Е на 14-е сутки у опытной группы составил $13,6 \pm 5,0$, что было ниже аналогичного показателя у данной группы на 30-е сутки (разница составила 19,85 %).

Концентрация витамина С на 14-е сутки у второй группы составил $14,8 \pm 1,7$ (при $p < 0,05$), что превышало значения контрольной группы и фонового исследования на 20,22 % и 51,23 % соответственно. На 30-е сутки показатель витамина А у опытной группы составил $17,64 \pm 2,18$, что превышало значения первой группы на 47,81 %

Проведенные исследования показали, что пробиотик «Целлобактерин-Т» оказывает нормализующее действие на неферментативное звено антиоксидантной системы гидробионтов, ингибируя процессы ПОЛ и повышая активность неферментативного звеньев системы АОЗ. Уменьшение концентрации витамина Е в группе рыб, в которой применялся «Целлобактерин-Т», объясняется тем, что применение пробиотиков может изменять микрофлору в кишечнике рыбы, что влияет на ее пищеварительную систему и поглощение питательных веществ. Также увеличенная на фоне применения пробиотика «Целлобактерин-Т» выработка витаминов А, Е и С способствовала снижению интенсивности выработки интерлейкина-6 [13—15].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Кормовая добавка «Целлобактерин-Т» способствовала восстановлению необходимого иммунного баланса в организме посредством уменьшения общего воспаления, что можно наблюдать по снижению уровня экспрессии провоспалительного цитокина интерлейкина-6. Кроме того, проведенные исследования показали, что пробиотик «Целлобактерин-Т» оказывает нормализующее действие на неферментативное звено антиоксидантной системы гидробионтов, ингибируя процессы ПОЛ и повышая активность неферментативного звеньев системы АОЗ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Tort L. Fish immune system. A crossroads between innate and adaptive responses / L. Tort, J. C. Balasch, S. Mackenzie // *Inmunología*. — 2003. — Т. 22. — № 3. — P. 277—286.

2. *Tanekhy M.* Expression profile of cytokine genes in the common carp species *Cyprinus carpio* L. following infection with *Aeromonas hydrophila* / M. Tanekhy, T. Kono, M. Sakai // *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists.* — 2009. — Т. 29. — P. 197—203.
3. *Bao L.* Dietary Ginkgo biloba leaf extract alters immune-related gene expression and disease resistance to *Aeromonas hydrophila* in common carp *Cyprinus carpio* / L. Bao, Y. Chen, H. Li [et. al] // *Fish & shellfish immunology.* — 2019. — Т. 94. — P. 810—818.
4. *Feng S.* Genome wide identification of scavenger receptors class A in common carp (*Cyprinus carpio*) and their expression following *Aeromonas hydrophila* infection / S. Feng, Y. Jiang, S. Zhang [et. al] // *Fish & Shellfish Immunology.* — 2016. — Т. 54. — P. 60—67.
5. *Rauta P. R.* Toll-like receptors (TLRs) in aquatic animals: signaling pathways, expressions and immune responses / P. R. Rauta, M. Samanta, H. R. Dash [et. al] // *Immunology Letters.* — 2014. — Т. 158. — № 1—2. — P. 14—24.
6. *Zante Merle D.* Cloning and characterization of the proximal promoter region of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) interleukin-6 gene / Merle D. Zante, A. Borchel, R. M. Brunner [et. al] // *Fish & Shellfish Immunology.* — 2015. — Т. 43. — № 1. — P. 249—256.
7. *Wei X.* Interleukin-6 gets involved in response to bacterial infection and promotes antibody production in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) / X. Wei, B. Li, L. Wu [et. al] // *Developmental & Comparative Immunology.* — 2018. — Т. 89. — P. 141—151.
8. *Lin H-T.* Bioactivity of orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) interleukin-6 in innate immunity: Inducing inflammation, antimicrobial peptides, and innate immune molecular gene expression as well as activating phagocytosis of leukocytes and increasing survival under *Vibrio* and NNV infection / H. T. Lin, L. C. Wang, Y. R. Chiang [et. al] // *Aquaculture Reports.* — 2022. — Т. 24 — P. 101—143.
9. *Sakai M.* Fish cytokines: current research and applications / M. Sakai, Ji. Hikima, T. Kono // *Fisheries Science.* — 2021. — Т. 87. — P. 1—9.
10. *Сташкевич Д. С.* Актуальные вопросы иммунологии: система цитокинов, биологическое значение, генетический полиморфизм, методы определения: учебное пособие / Д. С. Сташкевич, Ю. Ю. Филиппова, А. Л. Бурмистрова. — Челябинск: Цицеро, 2016. — 82 с.
11. *D.L Suarez.* Immunology of avian influenza virus: a review / *Developmental & Comparative Immunology.* — Volume 24, 2000, Pages 269—283.
12. *Kaneko N. , Kurata, M., Yamamoto, T. et al.* The role of interleukin-1 in general pathology / N. Kaneko [et al] // *InflammRegener.* — 2019. — Vol. 39. — P. 12. — <https://doi.org/10.1186/s41232-019-0101-5>
13. *Minemura M, Shimizu Y.* Gut microbiota and liver diseases. *World J Gastroenterol.* 2015 Feb 14;21(6):1691—702. doi: 10.3748/wjg.v21.i6.1691. PMID: 25684933; PMCID: PMC4323444
14. *Plaza-Diaz J, Gomez-Llorente C, Fontana L, Gil A.* Modulation of immunity and inflammatory gene expression in the gut, in inflammatory diseases of the gut and in the liver by probiotics. *World J Gastroenterol.* 2014 Nov 14;20(42):15 632—49. doi: 10.3748/wjg.v20.i42.15632. PMID: 25400447; PMCID: PMC4229528
15. *Niemann H., Kuhla B., Flachowsky G.* Perspectives for feed-efficient animal production. *Journal of Animal Science,* 2011, 89(12): 4344—4363 (doi: 10.2527/jas.2011-4235)

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Н. А. Стрельников — младший научный сотрудник лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики;

Е. В. Михайлов — кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, заведующий отделом экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем;

М. Ю. Сыромятников — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории метагеномики и пищевых биотехнологий;

Е. Д. Бакулина — студент кафедры генетики, цитологии и биоинженерии;

Е. В. Семенова — старший лаборант лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики;

П. В. Мирошниченко — ведущий научный сотрудник;

В. М. Басанкина — старший научный сотрудник.

Статья поступила в редакцию 13.11.2024

Original article
UDC 579.843.2

EFFECT OF THE PROBIOTIC “CELLOBACTERIN®-T” ON THE EXPRESSION LEVEL OF THE PROINFLAMMATORY CYTOKINE INTERLEUKIN-6 AND THE IMMUNE STATUS OF COMMON CARP IN CASE OF AEROMONOSIS

Nikolay Alekseevich Strelnikov*, Evgeniy Vladimirovich Mikhaylov**,
Mikhail Yuryevich Syromyatnikov***, Elizaveta Dmitrievna Bakulina****,
Elena Vladimirovna Semenova*****, Petr Vasilyevich Miroshnichenko*****,
Viktoriya Mikhaylovna Basankina*****

*All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy,
Voronezh, Russia, strelnikov.nickolay@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0781-7713>

**All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy,
Voronezh, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5457-1325>

***All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy,
Voronezh, Russia; Voronezh State University, Voronezh, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-9028-0613>

****Voronezh State University, Voronezh, Russia, <https://orcid.org/0009-0008-4802-020X>

*****All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy,
Voronezh, Russia; Voronezh State University, Voronezh, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3675-5467>

*****Krasnodar Scientific Center for Animal Science and Veterinary Medicine,
Krasnodar, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5835-1159>

*****Krasnodar Scientific Center for Animal Science and Veterinary Medicine,
Krasnodar, Russia <https://orcid.org/0009-0004-6184-7202>

Abstract. The article presents the results of a study of the effect of the probiotic “Cellobacterin®-T” on the expression of the cytokine gene interleukin-6 (IL-6) in common carp (*Cyprinus carpio*) in case of infections caused by *Aeromonas hydrophila*. For this purpose, the studied fish were divided into 2 groups: the experimental group ($n = 600$), which was given the main diet with the addition of the probiotic “Cellobacterin®-T” in the amount of 5 kg/ton of feed, and the control group ($n = 600$), which received only the main diet. The results of the use of the probiotic “Cellobacterin-T” obtained during the study showed a significant decrease in the expression level of the proinflammatory cytokine IL-6, compared to the control group: on day 14, the expression decreased by 77.1 %, and on day 30, there was observed a 4.2-fold decrease, compared to the control group, indicating a decrease in inflammatory processes. Such changes, which probably occur due to the bacteria *Bacillus subtilis*, which are part of the probiotic “Cellobacterin®-T”, contribute to the activation of macrophages, which in turn induce the work of both pro- and anti-inflammatory cytokines. In addition, it has been shown that “Cellobacterin-T” has a normalizing effect on the non-enzymatic link of the antioxidant system of common carp, inhibiting the LPO processes and increasing the activity of the non-enzymatic links of the AOD system.

Keywords: gene expression, aeromonosis, common carp, interleukin-6, probiotic, immune status, non-enzymatic link

INTRODUCTION

Over the past ten years, fish farming in Russia has taken one of the leading positions in agriculture. However, due to non-compliance with the standards of nutrition and keeping of aquatic organisms, alimen-

tary diseases that cause significant damage develop in them. Alimentary diseases lead to a weakening of the immune system and the ability to resist diseases, and the fish becomes susceptible to various bacteria and viruses [1, 2]. Aeromonosis, caused by bacteria of the

© Strelnikov N. A., Mikhaylov E. V., Syromyatnikov M. Y., Bakulina E. D., Semenova E. V., Miroshnichenko P. V., Basankina V. M., 2024

genus *Aeromonas*, is a serious problem in aquaculture. The most common pathogen is *Aeromonas hydrophila*, which causes infections in fish and other aquatic organisms [3]. This disease is widespread, causing significant economic damage to fish farms, which consists of 70 % of losses from the death of stock and significant costs for the rehabilitation of fish farms. At the moment, there is convincing evidence of the pathogenesis and effect of *Aeromonas hydrophila* on the immune system and metabolism of common carp [3—5].

In teleosts, IL-6 plays an important role in humoral immunity of fish, stimulating B-cell differentiation and antibody production, and increasing the expression of total and specific IgM [6]. Its central role in immunity is also explained by the fact that it acts as a proinflammatory agent in response to microbial infections and parasites, promoting such processes in the body as acute phase reactions, hematopoiesis and immune cell differentiation [7, 8]. IL-6 also promotes macrophage growth, an increase in their ratio to the CD4 + T cell population in the kidney, and their differentiation by stimulating the expression of the transcription factors GATA3 and C—MAF. In turn, IL-6 is affected by such vitamins as C and E, as a result of which they can suppress cytokine production, in particular, in blood plasma [8, 9].

The research objective was to study the expression level of the proinflammatory cytokine interleukin-6 and the immune status of common carp in case of aeromonosis using the probiotic “Cellobacterin®-T”.

MATERIAL AND METHODS

The studies were carried out at FSBSI “All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy” in the Laboratory of Innovative Preparations of Recombinant Proteomics

and in the Laboratory of Molecular-Genetic Analysis. The object of the study were year-old common carps weighing 800—900 grams. The selection of material was carried out at JSC “Fish-rearing farm” of Novovoronezh urban district, Voronezh region. The material for the study was the liver of common carp (*Cyprinus carpio*).

During the baseline study and the experiment with the probiotic “Cellobacterin-T”, biological material was collected from carp of all the studied groups. Microbiological examination of the intestines revealed the causative agent of aeromonosis — *Aeromonas hydrophila*. After the baseline studies and diagnosis, the aquatic organisms were divided into two groups: individuals of the first group (control pond) ($n = 600$) received the main diet, aquatic organisms of the second group ($n = 600$) received the main diet for 30 days with the addition of the probiotic drug “Cellobacterin-T” at a dosage of 5 kg/ton. Slaughter and selection of material was carried out in 2 stages: 14 days after the experiment onset with the addition of the probiotic “Cellobacterin-T”, the second — 30 days after the research onset.

The gene expression of common carp was assessed by PCR analysis with the addition of SYBR Green dye and using specific primers for the gene interleukin-6 and beta-actin (reference gene) (Table 1).

RNA was isolated using the RNA-Extran kit (Synthol, Russia) according to the instructions. The quality of the isolated RNA was assessed using electrophoresis in a 2 % agarose gel. Polymerase chain reaction was performed on Bio-Rad CFX 96 (Bio-rad, USA) and Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Australia) devices with a ready-to-use commercially available PCR mixture 5X qPCRmix-HS LowROX (Evrogen, Russia).

Table 1

List of primers for real-time PCR

Gene under study	Primer sequence
β-Actin	F: GTACGTTGCCATCCAGGCTGTG R: ACGTCACACTTCATGATGGAGTTGAAG
Fish IL-6	F: GATTGGTACAACGAAGAAGA R: GCATGACCCATATATGACCCA

The determination of the LPO-AOD indicators was carried out in accordance with the Methodological Provisions for the Study of Free Radical Oxidation Processes and the Antioxidant Defense System (2010), and the determination of the amount of serum lysozyme

activity (SLA), total immunoglobulins (TIG) and circulating immune complexes (CIC) was carried out in accordance with the Methodological Recommendations for the Assessment and Correction of the Immune Status of Animals.

STUDY RESULTS AND DISCUSSION

In the baseline and experimental studies, on day 14 of using the probiotic “Cellobacterin-T”, the expression of the interleukin-6 gene was the highest in the baseline study: it was by 30.6 % higher than in the control group and by 2.3 times higher than in the experimental group. Compared to the control group, in the individuals of the experimental group, the expression of interleukin-6 decreased by 77.1 %. The difference between the baseline study and the control group on day 14 may be due to different levels of bacterial load in these periods of time and different intensities of compensatory reactions of the immune response. Interleukin-6 induces inflammation processes by coor-

inating innate and acquired immune responses. A decrease in the activity of this cytokine may be associated with a decrease in inflammatory processes due to the fact that the probiotic contributed to a decrease in the inflammatory process and the overall level of stress in the immune system, as a result of which *Bacillus subtilis* bacteria could stimulate the immune response and reduce the damaging effect of acute phase inflammation processes (Fig. 1). On day 30 of using the probiotic “Cellobacterin-T”, the effect was even more pronounced: the expression level of the interleukin-6 gene in the experimental group decreased by 4.2 times, which indicated an increase in the efficacy of the probiotic depending on the duration of the course of use.

IL-6 (d 14)

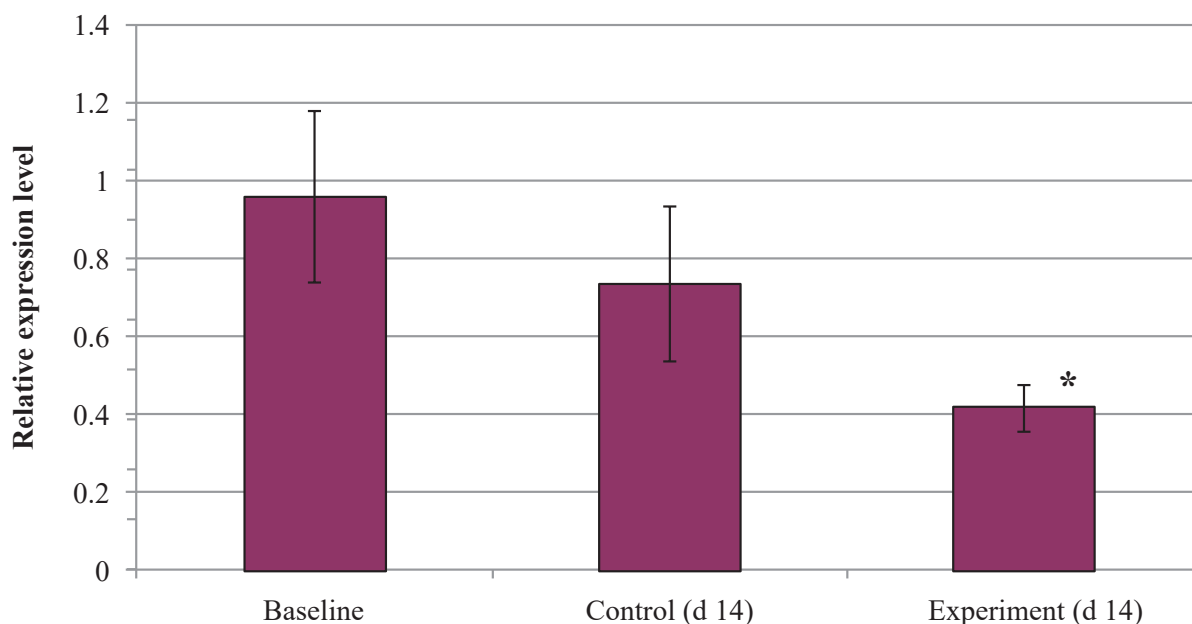


Fig. 1. Level of the IL-6 gene expression in common carp of the baseline, control and experimental groups on day 14 of probiotic use

* at $p < 0.05$ relative to the control group

The high level of the proinflammatory cytokine IL-6 can be explained by the fact that during a bacteriological study of the aquatic environment, the bacteria *Aeromonas hydrophila*, which are the causative agents of aeromonosis, were found in fish. A decrease in its expression level in the experimental group (where the probiotic was used) may indicate that the probiotic contributed to the “unloading” of the immune system from constant natural stress for the body. A probiotic based on *Bacillus subtilis* can interact with specific immunity, causing the activation and proliferation of T- and B-lymphocytes, which contributes to an increase

in the content of immunoglobulins of class M. This is confirmed by a multiple decrease in the level of IL-6 expression in the experimental group, compared to the control. The same thesis is relevant in the context of non-specific immunity. *Bacillus subtilis* contributes to the activation of macrophages, which in turn induce the work of both pro- and anti-inflammatory cytokines [8, 9].

In addition, a positive effect of the probiotic “Cellobacterin-T” on immunological indicators and the non-enzymatic link of the LPO-AOD in common carp was revealed (Tables 2 and 3).

IL-6 (d 30)

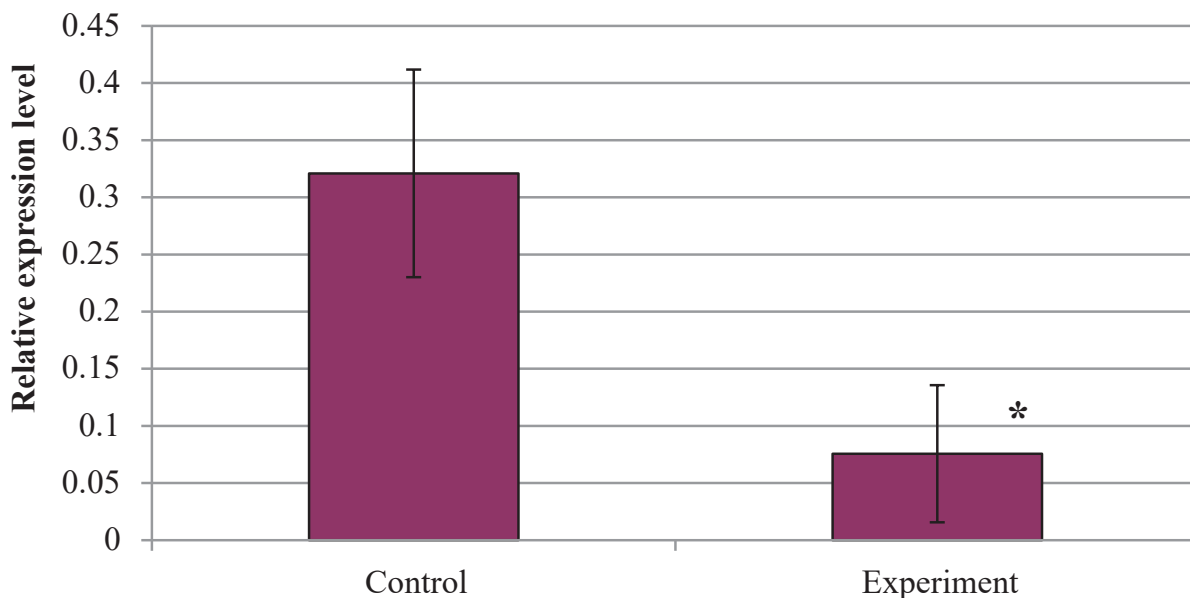


Fig. 2. Level of IL-6 expression in common carp on day 30 of probiotic use
* at $p < 0.05$ relative to the control group

Table 2

Results of immunological indicators of carps

Indicators	Baseline study	d 14		d 30	
		Control	Experiment	Control	Experiment
SLA, $\mu\text{g/ml}$	1.16 ± 0.06	1.23 ± 0.06	1.42 ± 0.07	1.27 ± 0.06	1.53 ± 0.07
CIC, mg/ml	0.18 ± 0.05	0.29 ± 0.10	0.12 ± 0.05	0.19 ± 0.10	0.10 ± 0.05
TIG, mg/ml	1.42 ± 3.23	2.42 ± 1.19	$6.24 \pm 1.19^*$	2.31 ± 1.21	$8.95 \pm 1.19^*$

* $p < 0.05$ relative to the baseline study

According to the results of the immunological study of blood serum, it was revealed that the concentration of the SLA indicator on day 14 of probiotic use increased by 5.2 %, and on day 30, it decreased by 7.4 %. The indicator of circulating immune complexes decreased by 82.3 % on day 14 in the group using the probiotic “Cellobacterin-T”, but on day 30, it increased by 51.5 %. Intoxication developing in case of acute inflammatory diseases in the biliary tract disrupts the functioning of the immune system, which is manifested in a decrease in the number of circulating cellular elements. When determining the concentration of TIG, it was noted that in the group of fish given the probiotic, there was a decrease by 2.5 times on day 14, and by 65.3 % — on day 30 [10–12]. On day 14, the concentration of vitamin A in the control

group was 1.0 ± 0.06 (at $p < 0.05$) and was lower than the values of the experimental group and the baseline study by 2.12 times and 20.23 %, respectively. On day 30, the vitamin A indicator in the experimental group was 3.6 ± 1.44 (at $p < 0.05$) and was higher than the value of the control group by 40.32 %. The vitamin E indicator on day 14 in the experimental group was 13.6 ± 5.0 , which was lower than the same indicator in this group on day 30 (the difference was 19.85 %).

The concentration of vitamin C on day 14 in the second group was 14.8 ± 1.7 (at $p < 0.05$), which exceeded the values of the control group and the baseline study by 20.22 % and 51.23 %, respectively. On day 30, the vitamin A level in the experimental group was 17.64 ± 2.18 , which exceeded the values of the first group by 47.81 %.

Table 3

Non-enzymatic link of the LPO-AOD

Indicators	Baseline study	d 14		d 30	
		Control	Experiment	Control	Experiment
Vitamin A, µM/L	1.20 ± 0.11	1.01 ± 0.06**	3.14 ± 1.28*	1.45 ± 1.14*	3.64 ± 1.44*
Vitamin E, µM/L	11.13 ± 3.59	10.17 ± 3.22	13.64 ± 5.05	15.33 ± 3.09	16.37 ± 5.29
Vitamin C, µM/L	9.84 ± 1.92	12.39 ± 2.21	14.81 ± 1.78*	11.91 ± 2.04	17.60 ± 2.12

* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ relative to the baseline study

The conducted studies have shown that the probiotic “Cellobacterin-T” has a normalizing effect on the non-enzymatic link of the antioxidant system of aquatic organisms, inhibiting lipid peroxidation processes and increasing the activity of the non-enzymatic links of the antioxidant defense system. The decrease in the concentration of vitamin E in the group of fish, in which “Cellobacterin-T” was used, is explained by the fact that the use of probiotics can change the microflora in the intestines of fish, which affects its digestive system and absorption of nutrients. The increased production of vitamins A, E and C against the background of the use of the probiotic “Cellobacterin-T” also contributed to a decrease in the intensity of interleukin-6 production [13—15].

CONCLUSION

The feed additive “Cellobacterin-T” contributed to the restoration of the necessary immune balance in the body by reducing general inflammation, which can be observed by a decrease in the expression level of the proinflammatory cytokine interleukin-6. In addition, the conducted studies have shown that the probiotic “Cellobacterin-T” has a normalizing effect on the non-enzymatic link of the antioxidant system of aquatic organisms, inhibiting lipid peroxidation processes and increasing the activity of the non-enzymatic links of the antioxidant protection system.

REFERENCES

1. Tort L. Fish immune system. A crossroads between innate and adaptive responses / L. Tort, J. C. Balasch, S. Mackenzie // *Inmunología*. — 2003. — V. 22. — No. 3. — P. 277—286.
2. Tanekhy M. Expression profile of cytokine genes in the common carp species *Cyprinus carpio* L. following infection with *Aeromonas hydrophila* / M. Tanekhy, T. Kono, M. Sakai // *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*. — 2009. — V. 29. — P. 197—203.

3. Bao L. Dietary Ginkgo biloba leaf extract alters immune-related gene expression and disease resistance to *Aeromonas hydrophila* in common carp *Cyprinus carpio* / L. Bao, Y. Chen, H. Li [et. al] // *Fish & shellfish immunology*. — 2019. — V. 94. — P. 810—818.

4. Feng S. Genome wide identification of scavenger receptors class A in common carp (*Cyprinus carpio*) and their expression following *Aeromonas hydrophila* infection / S. Feng, Y. Jiang, S. Zhang [et. al] // *Fish & Shellfish Immunology*. — 2016. — V. 54. — P. 60—67.

5. Rauta P. R. Toll-like receptors (TLRs) in aquatic animals: signaling pathways, expressions and immune responses / P. R. Rauta, M. Samanta, H. R. Dash [et. al] // *Immunology Letters*. — 2014. — V. 158. — No. 1—2. — P. 14—24.

6. Zante Merle D. Cloning and characterization of the proximal promoter region of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) interleukin-6 gene / Merle D. Zante, A. Borchel, R. M. Brunner [et. al] // *Fish & Shellfish Immunology*. — 2015. — V. 43. — No. 1. — P. 249—256.

7. Wei X. Interleukin-6 gets involved in response to bacterial infection and promotes antibody production in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) / X. Wei, B. Li, L. Wu [et. al] // *Developmental & Comparative Immunology*. — 2018. — V. 89. — P. 141—151.

8. Lin H-T. Bioactivity of orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) interleukin-6 in innate immunity: Inducing inflammation, antimicrobial peptides, and innate immune molecular gene expression as well as activating phagocytosis of leukocytes and increasing survival under *Vibrio* and NNV infection / H. T. Lin, L. C. Wang, Y. R. Chiang [et. al] // *Aquaculture Reports*. — 2022. — V.24 — P. 101—143.

9. Sakai M. Fish cytokines: current research and applications / M. Sakai, Ji. Hikima, T. Kono // *Fisheries Science*. — 2021. — V.87. — P. 1—9.

10. Stashkevich D. S. Current issues in immunology: cytokine system, biological significance, genetic polymorphism, methods of determination: a tutorial / D. S. Stashkevich, Yu. Yu. Filippova, A. L. Burmistrova. — Chelyabinsk: Tsitsero, 2016. — 82 p.

11. *D.L Suarez*. Immunology of avian influenza virus: a review / *Developmental & Comparative Immunology*. — V. 24, 2000, P. 269—283.

12. *Kaneko N., Kurata, M., Yamamoto, T. et al.* The role of interleukin-1 in general pathology / *N. Kaneko [et al] // InflammRegener*. — 2019. — V. 39. — P. 12. — <https://doi.org/10.1186/s41232-019-0101-5>

13. *Minemura M, Shimizu Y*. Gut microbiota and liver diseases. *World J Gastroenterol*. 2015 Feb 14;21(6):1691—702. doi: 10.3748/wjg.v21.i6.1691. PMID: 25684933; PMCID: PMC4323444

14. *Plaza-Diaz J, Gomez-Llorente C, Fontana L, Gil A*. Modulation of immunity and inflammatory gene expression in the gut, in inflammatory diseases of the gut and in the liver by probiotics. *World J Gastroenterol*. 2014 Nov 14;20(42):15 632—49. doi: 10.3748/wjg.v20.i42.15632. PMID: 25400447; PMCID: PMC4229528

15. *Niemann H, Kuhla B, Flachowsky G*. Perspectives for feed-efficient animal production. *Journal of Animal Science*, 2011, 89(12): 4344—4363 (doi: 10.2527/jas.2011-4235)

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

N. A. Strelnikov — Junior Scientific Associate of the Laboratory of Innovative Preparations of Recombinant Proteomics;

E. V. Mikhaylov — Candidate of Veterinary Sciences, Principle Scientific Associate, Head of the Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems;

M. Yu. Syromyatnikov — Candidate of Biological Sciences, Principal Scientific Associate of the Laboratory of Metagenomics and Food Biotechnologies;

E. D. Bakulina — Student of the Department of Genetics, Cytology and Bioengineering;

E. V. Semenova — Senior Laboratory Assistant of the Laboratory of Innovative Preparations of Recombinant Proteomics;

P. V. Miroshnichenko — Principle Scientific Associate;

V. M. Basankina — Senior Scientific Associate.

The article was submitted 13.11.2024.

ПАТОФИЗИОЛОГИЯ, ПАТОБИОХИМИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

Научная статья

УДК 619:633.877.1:616.15:616.155.3—076.5:636.2:636.082.35

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2024.4.103

ВЛИЯНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ КОМПОЗИЦИИ ЭКСТРАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ДРЕВЕСНОЙ ЗЕЛЕНИ ПИХТЫ НА ДИНАМИКУ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ, ИНТЕГРАЛЬНЫХ ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ ИНДЕКСОВ И ПРОДУКТИВНОСТЬ ЖИВОТНЫХ

Ольга Юрьевна Опарина*, Александр Сергеевич Красноперов**,
Сергей Витальевич Малков***, Александр Иванович Белоусов****,
Антон Евгеньевич Черницкий*****

*, **, ***, ****, ***** *Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр*

Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия

https://orcid.org/0000-0001-6106-3003

***marafon.86@list.ru, https://orcid.org/0000-0001-5281-803X*

****https://orcid.org/0000-0002-1961-4972*

*****https://orcid.org/0000-0002-7838-4126*

******https://orcid.org/0000-0001-8953-687X*

Аннотация. В статье рассмотрены изменения количества форменных элементов крови, соотношение клеток лейкоформулы, лейкоцитарных индексов и живой массы телят, получавших композицию экстрактивных веществ древесной зелени пихты в течение 28-ми дней в количестве 5 мл/день на голову. Объектом сравнения являлись телята, не получавшие испытуемой композиции. На 7-й день исследований зарегистрировали увеличение количества эритроцитов в крови животных обеих групп: в опытной на 9,7 % и контрольной на 11,7 %. Значимым моментом исследования стало наблюдение за изменением абсолютного числа лимфоцитов, которое демонстрировало тенденцию к увеличению у телят обеих групп, однако с разной степенью выраженности. Так у животных опытной группы увеличение этого пула клеток составило 37,2 %, а у особой контрольной — 24,6 %, что возможно связано с активным периодом становления иммунной системы, который более интенсивно происходил у особой экспериментальной группы (цифровые значения оставались в нормативном диапазоне). Снижение количества палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов происходило на протяжении первого месяца жизни, и не выходило за пределы нижнего уровня у телят обеих групп: экспериментальной — в 1,9 и 1,4 раза, контрольной — в 4,3 и 1,7 раза соответственно. Гематологические исследования и расчет лейкоцитарных интегральных индексов крови подтвердили отсутствие в организме телят воспалительных, интоксикационных и аллергических процессов при сохранении возможностей адаптационного потенциала. К двенадцатимесячному возрасту прирост живой массы животных в опытной группе составил 377 кг, в контрольной — 337 кг.

Ключевые слова: телята, композиция экстрактивных веществ древесной зелени пихты, гематологические исследования, интегральные лейкоцитарные индексы, живая масса

Выращивание здорового молодняка, устойчивого к неблагоприятным факторам среды и способного в дальнейшем к максимальной реализации своего генетического потенциала, остается актуальной задачей молочного животноводства [1—2].

Для решения этой задачи необходимо не только комплектование молочных ферм и комплексов высокопродуктивным молодняком, но и применение эффективных экономически обоснованных систем разведения и содержания [3—6]. Однако интенсив-

© Опарина О. Ю., Красноперов А. С., Малков С. В., Белоусов А. И., Черницкий А. Е., 2024

ное ведение животноводства имеет и некоторые негативные последствия. В последние годы отмечается устойчивый рост рождения телят с пониженной жизнеспособностью, которые в дальнейшем предрасположены к заболеваниям и демонстрируют заметное отставание в динамике роста и развития [7—9]. Поэтому поддержание и коррекция их здоровья в ходе роста и развития является важной задачей современной биологии.

В период неонатального развития происходит становление физиологической зрелости, сопровождающееся морфофункциональными перестройками организма и адаптацией новорожденного к новым внеутробным условиям существования. Для того, чтобы поддержать постнатальную адаптацию телят и снизить риск их заболевания, показано применение корригирующих кормовых добавок, содержащих про- и пребиотики, витамины, макро- и микроэлементы [10—14].

Особого внимания заслуживают средства природного происхождения, обладающие высокой биологической активностью компонентов [15—20]. Одним из таких средств является композиция экстрактивных веществ древесной зелени пихты (далее — композиция ЭВДЗП) (ООО «НТП Института химии КНЦ УрО РАН», Россия), полученная путем переработки хвои пихты и характеризующаяся высоким содержанием эфирных масел, тритерпеновых кислот, биодоступных флавоноидов и полипренолов, которые обладают выраженным иммуномодулирующим и противовирусным действием [21—23].

Таким образом, **целью нашей работы** явилось исследование воздействия композиции ЭВДЗП на гематологические показатели, интегральные лейкоцитарные индексы и живую массу телят как в неонатальный период, так и в долгосрочной перспективе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проведены на базе отдела экологии и незаразной патологии животных Уральского научно-исследовательского ветеринарного института — структурного подразделения ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН в рамках Государственного задания в соответствии с Программой ФНИ государственных академий наук по направлению 4.2.1.5 «Разработка технологий прижизненного управления качеством животноводческого сырья для получения высококачественных и безопасных продуктов питания».

Объектом исследования служили новорожденные телята голштинской породы, содержащиеся в условиях одного из сельскохозяйственных предприятий Белоярского района Свердловской области. Для проведения эксперимента были сформированы две группы клинически здоровых животных, по 5 голов в каждой. Особям опытной группы выпаивали композицию ЭВДЗП индивидуально в количестве 5 мл на голову 1 раз в сутки в течение 28-ми дней предварительно разводя с молоком или ЗЦМ в соотношении 1:10. Телята контрольной группы исследуемую композицию не получали. Животных содержали в клетках по 5 голов на соломенной подстилке, молозиво (затем молоко) получали в первые две недели жизни три раза в день, с 15-го дня — два раза (утром и вечером) из расчета 1,2—1,3 л на 10 кг массы тела. К концентрированным кормам животных приучали, начиная с 7-го дня. Диспансеризацию телят проводили по методике Кондрахина И. П. (2008) [24]. Кровь для исследований отбирали в 1-й, 7-й, 14-й, 21-й и 28-й дни после рождения из яремной вены перед утренним кормлением с помощью коммерческих вакуумных систем, содержащих динатриевую соль этилендиаминтетрауксусной кислоты в качестве антикоагулянта.

Количественное определение в крови эритроцитов, гемоглобина, тромбоцитов и лейкоцитов выполняли на ветеринарном гематологическом анализаторе Abacus Junior Vet (Diatron, Австрия); дифференциальный подсчет лейкоцитов в мазках крови, окрашенных по Романовскому — Гимзе — на микроскопе Olympus BX43 (Olympus, Япония) с последующим определением лейкоцитарной формулы и интегральных лейкоцитарных индексов — индекса Кребса (ИК), лимфоцитарного индекса (ЛИк по Г. И. Козицину), индекса сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК), лимфоцитарного индекса интоксикации (ЛИИкк по Я. Я. Кальф-Калифу), лимфоцитарного индекса интоксикации (ЛИИю по В. К. Островскому), индекса уровня интоксикации (УИс по П. В. Сарапу), ядерного индекса интоксикации и степени эндотоксикоза по Г. Д. Даштаянцу (ЯИСЭ), индекса аллергизации по В. С. Тихончук (ИАЛ), индекса адаптации по Л. Х. Гаркави (ИА) [25—31].

Цифровой материал исследований был обработан математическими методами с использованием специального программного пакета «Microsoft Office» с применением программ «Excel» («Microsoft», США), «Statistica 10.0» («Stat Soft Inc.», США), с установлением средне-

арифметических значений и стандартного отклонения. Данные представляли в формате: среднее (M) ± стандартное отклонение (SD), достоверность различий между выборками определяли с помощью U-критерия Манна — Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Кровь — это особая, жидкая и подвижная соединительная ткань внутренней среды организма. Она является достаточно лабильной формой, находится в постоянном контакте со всеми органами, тканями и является индикатором реакции на все изменения в организме. Наблюдения за локомоциями

отдельных компонентов крови считается интересным объектом исследований, отражающим физиологическое состояние животных.

В периферической крови новорожденных телят опытной и контрольной групп зарегистрировали следующие значения эритроцитов и гемоглобина: 8,12—7,06·10¹²/л и 92,75—84,67 г/л соответственно, что было в пределах среднестатистической нормы. Количество этих компонентов крови в первый день жизни чаще всего зависит от характера внутриутробного развития и состояния организма матери, а также активности становления системы кроветворения организма и перераспределения фетального и взрослого гемоглобина (рис. 1).

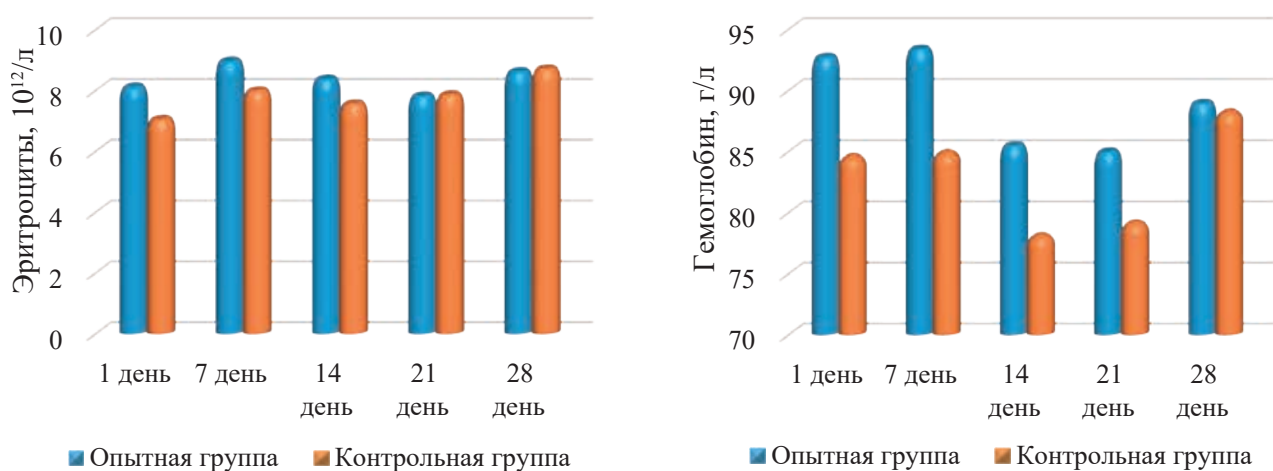


Рис. 1. Изменение абсолютного количества эритроцитов и гемоглобина у телят 1 месяца жизни

На четырнадцатый день исследований у телят опытной группы отмечали сокращение содержания гемоглобина до уровня 85,50 ± 19,87·10¹²/л, что, по-видимому, было обусловлено перераспределением содержания двух видов гемоглобина в эритроцитах, и это количество сохранялось до 21-го дня. Четвертая неделя исследований характеризовалась возвращением значений этого показателя к уровню 1-го дня жизни телят. Несколько иная картина вариаций гемоглобина была выявлена у животных контрольной группы: от рождения до 7-ми дневного возраста в пределах 84,67—85,00 г/л, затем наблюдали снижение вплоть до третьей недели жизни. К 28-му дню опытного периода зарегистрировали увеличение содержания гемоглобина до уровня, несколько превышающего значения новорожденных телят, что возможно связано с полным замещением фетального гемоглобина взрослым. Следовательно, животные обеих групп имели практически одинаковую выраженность дыхательной функции крови и состояние общей резистент-

ности организма. За период проведения исследований выявили некоторые различия в динамике изменения количества эритроцитов и скорости их оседания (СОЭ). У животных опытной группы до 14-го дня наблюдали незначительное увеличение эритроцитов и существенное СОЭ на 28,3 % соответственно (рис. 2).

У телят контрольной группы вариации этих показателей имели аналогичный дизайн, но с более интенсивной динамикой. На 14-й день отмечали нарастание эритроцитов и СОЭ до значений 8,00 ± 1,49·10¹²/л (на 11,7 %) и 1,00 ± 0,05 мм/час (на 36 %) соответственно. На завершающем этапе эксперимента регистрировали их возвращение к величинам, близким новорожденному периоду, но не выходящим за пределы нормативных значений.

В связи с тем, что кроветворная система новорожденных телят еще не стабильна, колебания количества форменных элементов крови могут изменяться в широком диапазоне. На начальном этапе исследований выявили невысокие значения кон-

центрации тромбоцитов у животных обеих групп. Нарастание этого показателя у телят опытной группы происходило в течение 2-х недель, а у особей

контрольной — 1-й недели, с последующей стабилизацией и некоторым сокращением. Однако они не превышали референсные.

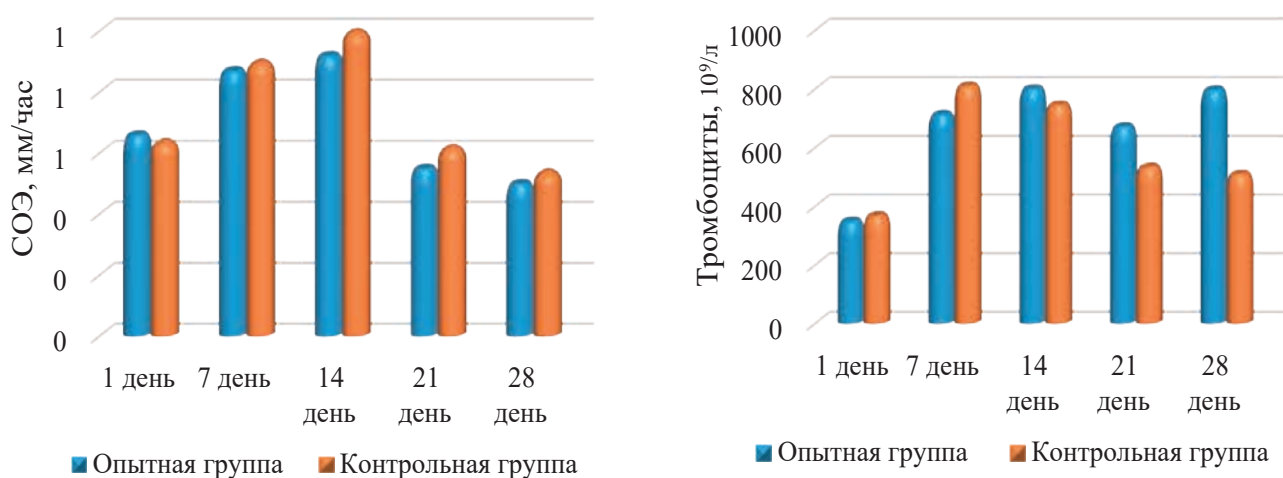


Рис. 2. Изменение СОЭ и абсолютного количества тромбоцитов у телят 1 месяца жизни

В наших исследованиях мы зарегистрировали некоторую динамику абсолютных величин лейко-

цитов и лимфоцитов, которые оставались в пределах нормы (рис. 3).

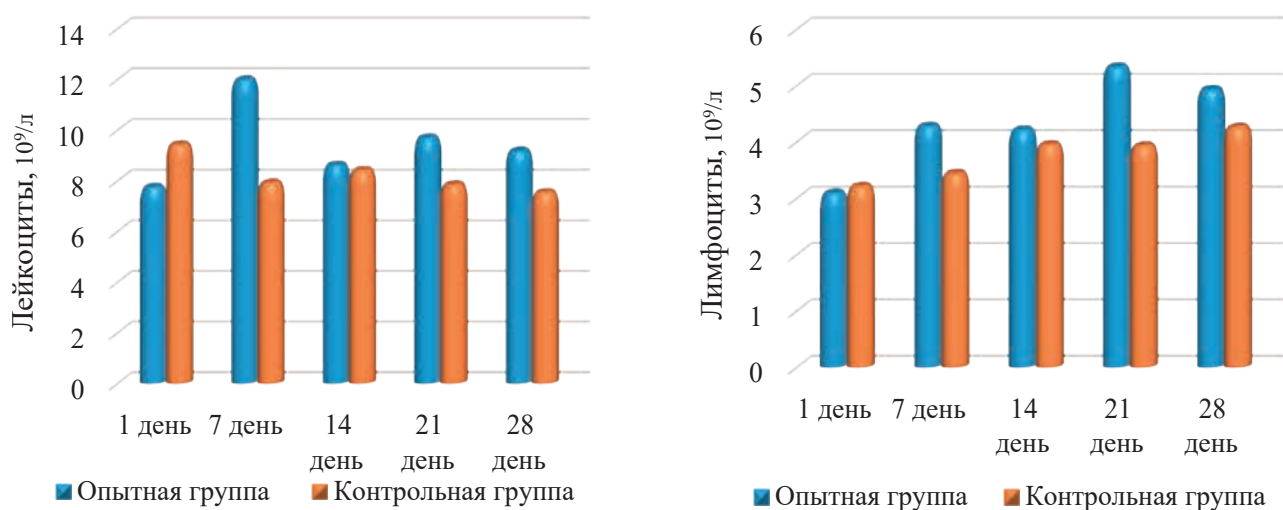


Рис. 3. Изменение абсолютного количества лейкоцитов и лимфоцитов у телят 1 месяца жизни

Для оценки становления реактивности организма телят в первый месяц жизни проводили расчет лейкоцитарных индексов, что позволило выявить некоторую зависимость от возраста и применения испытываемой композиции особям опытной группы.

Индекс Кребса (ИК) — характеризует поддержание общей резистентности организма, степень активности факторов специфического иммунитета и фагоцитарной реакции. При анализе лейкограммы новорожденных телят наблюдали преобладание количества нейтрофилов над лимфоцитами, а по мере взросления животных отмечали противо-

положную картину, что отражалось на коэффициенте ИК. Так до 28-го дня наблюдали увеличение относительного количества лимфоцитов в опытной и контрольной группах в 1,5 и 1,4 раза, наряду с сокращением относительного количества нейтрофилов в 1,5 и 1,7 раза соответственно. При гегемонии лимфоцитов в крови телят опытной группы ИК сократился до $0,66 \pm 0,13$ у. е. по отношению к первоначальным цифровым значениям, а у особей контрольной группы напротив увеличился на 14-й и 21-й дни до $1,69 \pm 0,08$ и $1,59 \pm 0,10$ у. е. соответственно (табл.).

Таблица 1

Динамика изменения лейкоцитарных индексов у телят

Формула и название индекса	Группа	1 день	7 день	14 день	21 день	28 день
$ИК = \Sigma H/L$	Опытная	1,47	1,12	0,98	0,69	0,66
	Контрольная	1,04	0,72	1,69	1,59	0,41
$ЛИ_{Ик} = L/\Sigma H$	Опытная	0,68	0,89	1,02	1,46	1,50
	Контрольная	0,96	1,40	1,44	1,70	2,41
$ЛИИ_{Икк} = (3 \cdot Н_{ю} + 2 \cdot Н_{п} + Н_{с}) \cdot 1/(L + M) \cdot (\mathcal{E} + 1)$	Опытная	0,33	0,91	0,52	0,51	0,32
	Контрольная	0,37	0,61	0,53	0,35	0,34
$ЛИИ_{Ио} = \Sigma H/L + M + \mathcal{E} + B$	Опытная	1,23	0,98	0,88	0,59	0,59
	Контрольная	0,94	0,58	0,61	0,51	0,39
$ИСЛК = \Sigma H + B + \mathcal{E}/M + L$	Опытная	1,46	1,01	0,91	0,62	0,65
	Контрольная	1,01	0,58	0,63	0,57	0,40
$УИ_{с} = (ЛИИ + ЯИС_{\mathcal{E}} + ИСЛК)/3$	Опытная	0,65	0,72	0,52	0,47	0,39
	Контрольная	0,51	0,53	0,46	0,39	0,30
$ЯИС_{\mathcal{E}д} = (Н_{ю} + Н_{п} + M)/H_{с}$	Опытная	0,15	0,24	0,12	0,27	0,20
	Контрольная	0,14	0,40	0,22	0,25	0,17
$ИАЛ = (L + \mathcal{E})/(\Sigma H + B + M)$	Опытная	0,69	0,79	0,94	1,20	1,32
	Контрольная	0,94	1,06	1,20	1,39	2,09
$ИА = L/H_{с}$	Опытная	0,74	0,98	1,04	1,54	1,60
	Контрольная	1,03	1,48	1,49	1,80	2,50

При определении лимфоцитарного индекса (ЛИ по Г. И. Козицину), отражающему взаимоотношение гуморального и клеточного звеньев иммунной системы и оценивающему возможное стрессовое состояние на применение композиции ЭВДЗП, мы выявили следующие результаты. На протяжении первого месяца жизни значения этого индекса увеличивались у животных обеих групп: в опытной в 2,2 раза, в контрольной в 2,5 раза. Эти изменения предполагают сбалансированность ответных реакций организма телят опытной и контрольной групп в период роста и развития.

Индекс сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК) представляет собой отношение суммы всех гранулоцитов к сумме агранулоцитов. По завершении экспериментального периода у телят обеих групп было зафиксировано снижение значений данного индек-

са, но с различной степенью выраженности. У животных опытной группы ИСЛК уменьшился в 2,2 раза, в то время как у особей контрольной — в 2,5 раза. Это снижение связано с уменьшением функциональной активности нейтрофилов и активацией синтеза лимфоцитов. Кроме того, отмечали перераспределение отдельных популяций лейкоцитов за счет некоторой компенсации нейтрофильных гранулоцитов эозинофилами и моноцитами. Следовательно, в организме телят первого месяца жизни мы не выявили признаков воспалительного процесса, а снижение значений ИСЛК можно расценивать как положительный показатель развития животных.

В наших исследованиях важным этапом было определение индексов интоксикации (ЛИИ_{Икк} по Я. Я. Кальф-Калифу, ЛИИ_{Ио} по В. К. Островскому)

и уровня интоксикации (УИС по П. В. Сарапу), которые отражают реактивность органов гемопоэза и иммуногенеза на интоксикацию, являясь эффективным методом оценки эндогенной интоксикации (ЭИ) [11]. Анализируя полученные результаты, выявили незначительное повышение ЛИИкк и УИС у телят обеих групп в 7-ми дневном возрасте, по отношению к фоновым значениям. В дальнейшем до окончания эксперимента значения этих индексов только сокращались, что свидетельствовало об отсутствии интоксикационных процессов в организме животных.

Эндогенная интоксикация имеет закономерный фазный характер развития, заключающийся в количественном и качественном нарастании или перераспределении клеток лейкоцитарной формулы. Для того чтобы определить степень эндотоксикоза или его отсутствие проводили определение ядерного индекса интоксикации и степени эндотоксикоза по Г. Д. Даштаянцу (ЯИСЭд). К 7-му дню исследований значения данного индекса возросли у телят обеих групп, однако более заметный рост наблюдали в контрольной группе. Это может быть связано с цитолизом сегментоядерных нейтрофи-

лов и возможным активным синтезом моноцитов и лимфоцитов. Изменения индекса в течение опытного периода указывают на скорость регенерации нейтрофилов и моноцитов, а также на продолжительность их циркуляции в кровеносной системе.

Оценку степени аллергизации проводили вычислением индекса аллергизации по В. С. Тихончук (ИАЛ). При анализе полученных данных наблюдали незначительное увеличение значений ИАЛ у телят обеих групп на протяжении опытного периода, что говорит об отсутствии аллергической реакции.

Для определения специфических адаптационных реакций организма подсчитывали индекс адаптации по Л. Х. Гаркави (ИА). Установлено, что значения ИА имеют противоположную динамику со значениями индекса Кребса. У телят опытной группы этот коэффициент увеличился от $0,74 \pm 0,05$ у. е. до $1,60 \pm 0,14$ у. е., а у особей контрольной группы от $1,03 \pm 0,10$ у. е. до $2,50 \pm 0,22$ у. е. соответственно.

Для выявления возможных отдаленных реакций организма телят на применение композиции ЭВДЗП провели наблюдения за приростом живой массы в течении одного года.

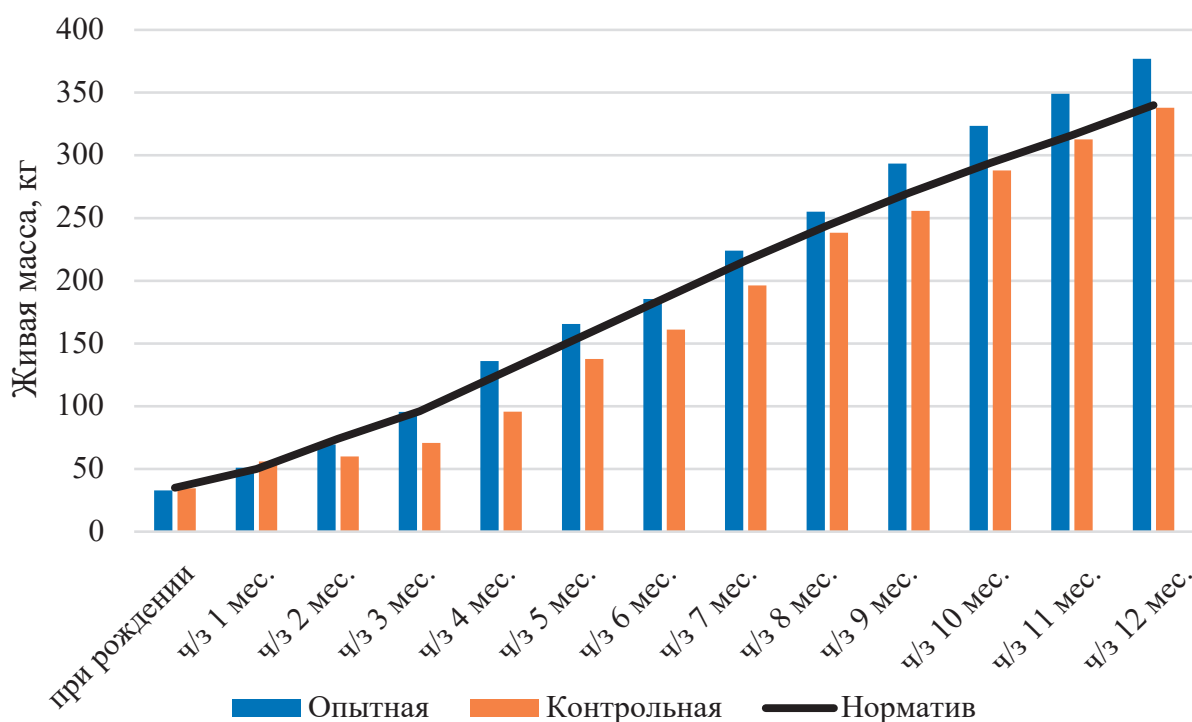


Рис. 4. Динамика изменения живой массы телят в течение первого года жизни

При рождении средний вес телят был на уровне $32,8 \pm 0,85$ кг в опытной группе и $34,5 \pm 0,97$ кг в контрольной. В начальный период постнатального онтогенеза — через три месяца после рождения

зарегистрировали наивысшую интенсивность прироста живой массы. Так у опытных животных вес увеличился в 2,9 раза, а у контрольных только в 2,0 раза относительно такового при рождении. В этот

период разница между исследуемыми группами составила 24,8 кг, которая сохранялась до окончания шестого месяца жизни. В последующие месяцы наблюдений средние показатели живой массы телят опытной группы несколько превышали нормативные показатели (на 3,6 % и 9,8 %), а у особей контрольной группы напротив — не достигали предусмотренных плановых значений (–5,3 %... –9,1 %). Следовательно, можно предположить, что применение композиции ЭВДЗП молодняку голштинской породы опосредованно положительно влияет на динамику живой массы (рис. 4).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявленные изменения гематологических показателей соответствовали процессам нормализации гемопоэза и восстановления иммунологической реактивности в неонатальный период телят. Определение лейкоцитарных интегральных индексов позволило повысить информативность традиционных диагностических тестов и оценить степень интоксикации, адаптации и аллергизации организма животных при применении испытываемой композиции.

Кроме того, можно предположить, что применение композиции ЭВДЗП оказало позитивное воздействие не только на стабилизацию количественного состава клеток крови в постнатальный период развития, но и опосредованно стимулировало прирост живой массы телят.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Клетикова Л. В., Мартынов А. Н., Шишкина Н. П. Физиологический статус новорожденных телят голштинской породы // Вестник КрасГАУ. 2019. № 8. С. 68—75.
2. Шкуратова И. А., Донник И. М., Исаева А. Г., Кривоногова А. С. Эколого-биологические особенности крупного рогатого скота в условиях техногенеза // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2015. № 2. С. 366—369.
3. Горелик О. В. Влияние возраста матерей на рост и развитие телок в молочный период // Главный зоотехник. 2016. № 11. С. 41—46.
4. Лоретц О. Г., Горелик О. В., Беляева Н. В. Особенности роста и развития телок при холодном методе выращивания // Аграрный вестник Урала. 2017. № 6 (160). С. 9—16.
5. Бажинская А. А. Влияние кормов, контаминированных микотоксинами, на физиологическое состояние стельных коров и телят, полученных от них // Современный агропромышленный комплекс глазами молодых ученых. Материалы научно-образовательной школы аспирантов

Ассоциации аграрных вузов Центрального Федерального округа России. 2017. С. 3—9.

6. Мартынова А. Ю., Шевлягин А. О., Горелик О. В. Влияние сезона рождения на рост и развитие ремонтных телок // Молодежь и наука. 2018. № 5. С. 59.

7. Нежданов А. Г., Шабунин С. В., Сафонов В. А., Маланыч Е. В. Системное решение проблемы сохранения репродуктивного потенциала молочного скота в условиях промышленных технологий его эксплуатации // Аграрная наука — сельскохозяйственному производству Сибири, Казахстана, Монголии, Беларуси и Болгарии. Сборник научных докладов XX Международной научно-практической конференции. 2017. С. 260—262.

8. Черницкий А. Е., Шабунин С. В., Сафонов В. А. Преэклампсия у коров: функциональные нарушения в системе мать-плацента-плод и их последствия для здоровья потомства // Сельскохозяйственная биология. 2019. Т. 54. № 2. С. 246—258.

9. Требухов А. В. Особенности нарушения обмена у телят, рожденных от коров, больных кетозом // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. Ветеринария и зоотехния. 2021. № 6 (200). С. 44—49.

10. Гадзаонов Р., Пухаева И. Использование пробиотика в профилактике диспепсии у новорожденных телят. Ветеринария сельскохозяйственных животных. 2018. № 6. С. 36—41.

11. Гундоров М. А., Петрова О. Ю., Пахмутов И. А. Адаптация новорожденных телят-гипотрофиков и ее фармакокоррекция // Ученые записки КГАВМ им. Н. Э. Баумана. 2013. № 2. С. 143—148.

12. Сафонов В., Шишкина Е. Селемаг и гепатопротектор в профилактике послеродовых осложнений у коров // Молочное и мясное скотоводство. 2011. № 5. С. 25—26.

13. Черницкий А. Е., Скогорева Т. С., Сафонов В. А. Изучение особенностей микроэлементного обмена в системе «мать-плацента-плод» у крупного рогатого скота // Материалы XXIII съезда Физиологического общества имени И. П. Павлова. Воронеж: издательство «Истоки». 2017. С. 2477—2479.

14. Ruvalcaba-Gómez J. M., Villaseñor-González F., Espinosa-Martínez M. A., Gómez-Godínez L. J., Rojas-Anaya E., Villagrán Z., Anaya-Esparza L. M., Buendía-Rodríguez G., Arteaga-Garibay R. I. Growth Performance and Fecal Microbiota of Dairy Calves Supplemented with Autochthonous Lactic Acid Bacteria as Probiotics in Mexican Western Family Dairy Farming // Animals. 2023. 13 (18). P. 2841. <https://doi.org/10.3390/ani13182841>

15. Кичеева А. Г., Терещенко В. А., Иванов Е. А., Иванова О. В., Любимова Ю. Г. Применение хвои и скорлупы кедрового ореха в кормлении сельскохозяйственных животных и птицы (обзор) // Вестник НГАУ (Новосибирский Государственный Аграрный Университет). № 4 (61). 2021. С. 108—125.

16. Новикова Т. В., Бритвина И. В., Рыжаккина Е. А., Короткий В. П. Анализ состояния здоровья, молочной продуктивности и воспроизводства коров при использовании в рационах кормовой добавки на основе хвои // Молочнохозяйственный вестник. 2019. № 1 (33). С. 27—39.
17. Короткий В. П., Боголюбова Н. В., Рыжова Е. С., Рыжов В. А. Хвойная энергетическая добавка — источник энергии и биологически активных веществ в рационах коров // Farm News. 2018. № 4. С. 58—59.
18. Савин М. А. Оценка содержания полезных элементов в хвойно-витаминной кормовой добавке из экстрадированной древесной зелени сосны // Discovery Science Research: сборник статей VI Международной научно-практической конференции (24 дек. 2020 г.). Петрозаводск: Новая наука. 2020. С. 118—122.
19. Kothari D., Oh J. S., Kim J. H., Lee W. D., Kim S. K. Effect of Dietary Supplementation of Fermented Pine Needle Extract on Productive Performance, Egg Quality, and Serum Lipid Parameters in Laying Hens // Animals. 2021. Vol. 11. P. 1—11.
20. Pratap Ch. R., Manju S., Vysakhi M. V., Shaji P. K., Achuthan N. G. Nutritional and antinutritional properties of the leaf of *Ardisia solanacea* Roxb. (Myrsinaceae), a fodder additive // Intern. Food Res. J. 2015. Vol. 22. I. 1 P. 324—331.
21. Хвойная кормовая добавка Вэрва для животных и птиц // Монография под ред.: чл.-корр. РАН Кучин А. В., к. х.н. Хуришайнен Т. В. — Сыктывкар, 2019. — 160 с.
22. Питуримов А. С., Сапожников А. Ф., Филатов А. В. Качество перепелиных яиц при использовании биодобавки Вэрва // Сборник статей Всероссийской научно-практической конференции «Современные научно-практические достижения в ветеринарии». Киров. 2017. С. 58—59.
23. Шемуранова Н. А., Филатов А. В., Сапожников А. Ф. Откормочные и мясные качества свиней при использовании пихтового экстракта Вэрва // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. № 3 (52). 2016. С. 56—60.
24. Кондрахин И. П. Методические указания по диспансеризации сельскохозяйственных животных. Симферополь, 2008. 30 с.
25. Гринь В. К., Фисталь Э. Я., Сперанский И. И. Интегральные гематологические показатели лейкоцитарной формулы как критерий оценки тяжести течения ожоговой болезни // Комбустиология. 2006. № 27. С. 43—45.
26. Жуков А. П., Бикчентаева Г. Ю., Ростова Н. Ю. Морфологические показатели и индексы крови у голштинов канадской селекции в процессе длительной адаптации // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2012. № 2 (34). С. 86—90.
27. Саран П. В., Тутьнин К. В., Булыгин Г. В. Метод прогнозирования и выявления осложнений в раннем послеоперационном периоде: Патент, RL2190216. GO1 № 33/39. 27.09.2009.
28. Гаркави Л. Х., Толмачев Г. Н., Михайлов Н. Ю., Есинов Ю. В., Беня Ф. М., Зверинцева М. М., Долбила Т. В., Пляка П. С. Адаптационные реакции и уровни реактивности как эффективные диагностические показатели донозологических состояний // Вестник Южно-го научного центра. 2007. Т. 3. № 1. С. 61—66.
29. Кальф-Калиф Я. Я. О лейкоцитарном индексе интоксикации и его практическом значении // Врачебное дело. 1941. № 1. С. 31—35.
30. Сперанский И. И., Самойленко Г. Е., Лобачева М. В. Общий анализ крови — все ли его возможности исчерпаны? Интегральные индексы интоксикации как критерии оценки тяжести течения эндогенной интоксикации, ее осложнений и эффективности проводимого лечения // Материалы II Всероссийской научно-практической конференции «Интенсивная медицинская помощь: проблемы и решения» (7—8 октября 2004 г., Ленинск-Кузнецкий). Новосибирск. 2004. С. 28—29.
31. Островский В. К., Мащенко А. В., Янголенко Д. В., Макаров С. В. Показатели крови и лейкоцитарного индекса интоксикации в оценке тяжести и определении прогноза при воспалительных, гнойных и гнойно-деструктивных заболеваниях // Клиническая лабораторная диагностика. 2006. № 6. С. 50—53.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

О. Ю. Опарина — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела экологии и незаразной патологии животных;

А. С. Красноперов — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела экологии и незаразной патологии животных;

С. В. Малков — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела экологии и незаразной патологии животных;

А. И. Белоусов — доктор ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела экологии и незаразной патологии животных;

А. Е. Черницкий — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела репродуктивной биологии и неонатологии.

Статья поступила в редакцию 10.10.2024.

PATHOPHYSIOLOGY, PATHOBIOCHEMISTRY
AND EXPERIMENTAL THERAPY

Original article

UDC 619:633.877.1:616.15:616.155.3—076.5:636.2:636.082.35

EFFECT OF APPLICATION OF FIR TREE FOLIAGE
EXTRACTIVES COMPOSITION ON THE DYNAMICS
OF HEMATOLOGICAL INDICATORS, INTEGRAL
LEUKOCYTE INDICES AND ANIMAL PRODUCTIVITY

Olga Yuryevna Oparina*, Aleksandr Sergeevich Krasnoperov**, Sergey Vitalyevich Malkov***,
Aleksandr Ivanovich Belousov****, Anton Evgenyevich Chernitskiy*****

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

*<https://orcid.org/0000-0001-6106-3003>

**marafon.86@list.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5281-803X>

***<https://orcid.org/0000-0002-1961-4972>

****<https://orcid.org/0000-0002-7838-4126>

*****<https://orcid.org/0000-0001-8953-687X>

Abstract. The article considers changes in the number of formed elements of the blood, the ratio of leukocyte formula cells, leukocyte indices and live weight of calves who received a fir tree foliage extractives composition for 28 days in the amount of 5 ml/day per animal. The object of comparison were calves who did not receive the test composition. On day 7 of the study, an increase in the number of erythrocytes in the blood of animals of both groups was recorded: in the experimental group — by 9.7 % and in the control group — by 11.7 %. A significant moment of the study was the observation of the change in the absolute number of lymphocytes, which demonstrated a tendency to increase in calves of both groups, but with varying degrees of severity. Thus, in the animals of the experimental group, the increase in this pool of cells was 37.2 %, and in the individuals of the control group — 24.6 %, which was possibly due to the active period of the immune system formation, which was more intense in the individuals of the experimental group (the digital values remained within the normal range). The decrease in the number of stab and segmented neutrophils occurred during the first month of life, and did not go beyond the lower level in calves of both groups: experimental — by 1.9 and 1.4 times, control — by 4.3 and 1.7 times, respectively. Hematological studies and calculation of leukocyte integral indices of the blood confirmed the absence of inflammatory, intoxication and allergic processes in the body of calves while maintaining the capabilities of the adaptive potential. By the age of twelve months, the increase in live weight of the animals in the experimental group was 377 kg, in the control — 337 kg.

Keywords: calves, fir tree foliage extractives composition, hematological studies, integral leukocyte indices, live weight

Rearing healthy young animals who are resistant to unfavorable environmental factors and capable of further maximizing their genetic potential remains a relevant issue in dairy cattle husbandry [1—2].

To solve this problem, it is necessary not only to stock dairy farms and complexes with high yielding young animals, but also to use effective, economically feasible breeding and keeping systems [3—6]. However, intensive livestock farming also has some negative consequences. In recent years, there has been

a steady increase in the birth of calves with reduced viability, which are subsequently predisposed to diseases and demonstrate a noticeable lag in the growth and development dynamics [7—9]. Therefore, maintaining and correcting their health during growth and development is an important task of modern biology.

During the neonatal development period, physiological maturity is established, accompanied by morphofunctional changes in the body and adaptation of the newborn to new extrauterine conditions of exis-

tence. In order to support the postnatal adaptation of calves and reduce the risk of their exposure to diseases, the use of corrective feed additives containing probiotics, vitamins, macro- and microelements is indicated [10—14]. Particular attention should be paid to natural products with high biological activity of their components [15—20]. One of such products is a fir tree foliage extractives composition (hereinafter referred to as the FTFE composition) (LLC “STE Institute of Chemistry of Komi Science Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences”, Russia), obtained by processing fir needles and characterized by a high content of essential oils, triterpene acids, bioavailable flavonoids and polyphenols, which have a pronounced immunomodulatory and antiviral effect [21—23].

Thus, **the aim of our work** was to study the effect of the FTFE composition on hematological indicators, integral leukocyte indices and live weight of calves both in the neonatal period and in the long term.

MATERIAL AND METHODS

The research was conducted at the Department of Ecology and Non-Contagious Animal Pathology of the Ural Veterinary Research Institute, a structural subdivision of the FSBSI Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the RAS, within the framework of the State Assignment in accordance with the Program of the Federal Research Institute of State Academies of Sciences in the direction 4.2.1.5 Development of Technologies for Lifetime Quality Control of Livestock Raw Material to Obtain High-Quality and Safe Food Products.

The object of the study were newborn Holstein calves kept at one of the agricultural enterprises of Beloyarskiy r. of Sverdlovsk region. To conduct the experiment, two groups of clinically healthy animals were formed, 5 animals in each one. The individuals of the experimental group were given the FTFE composition to drink individually in the amount of 5 ml per animal once a day for 28 days, preliminarily diluted with milk or calf milk replacer in a ratio of 1:10. The calves of the control group did not receive the studied composition. The animals were kept in cages (5 animals per cage) on a straw bedding; colostrum (later milk) was obtained three times a day during the first two weeks of life, and twice a day (morning and evening) from day 15 at a rate of 1.2—1.3 l per 10 kg of body weight. The animals were accustomed to concentrated feeds starting from day 7. The calves were examined according to the method of I. P. Kondrakhin (2008) [24]. Blood for the studies was collected on days

1, 7, 14, 21 and 28 after birth from the jugular vein before morning feeding using commercial vacuum systems containing disodium ethylenediaminetetraacetic acid as an anticoagulant.

Quantitative determination of erythrocytes, hemoglobin, platelets and leukocytes in the blood was performed using a veterinary hematology analyzer Abacus Junior Vet (Diatron, Austria); Differential leukocyte count in Romanowsky — Giemsa-stained blood smears — using an Olympus BX43 microscope (Olympus, Japan) with subsequent determination of the leukocyte formula and integral leukocyte indices — the Krebs index (KI), lymphocyte index (Lk according to G. I. Kozitsin), leukocyte shift index (LSI), lymphocyte index of intoxication (LIIk according to Ya. Ya. Kalf-Kalif), lymphocyte index of intoxication (LIIo according to V. K. Ostrovskiy), intoxication level index (ILs according to P. V. Sarap), nuclear index of intoxication and degree of endotoxiosis according to G. D. Dashtayants (NIDE), allergization index according to V. S. Tikhonchuk (ALI), adaptation index according to L. Kh. Garkavi (AI) [25—31].

The digital research material was processed by mathematical methods using a special software package “Microsoft Office” with the use of programs “Excel” (“Microsoft”, USA), Statistica 10.0 (Stat Soft Inc., USA), with the establishment of arithmetic mean values and standard deviation. The data were presented in the format: mean (M) ± standard deviation (SD), the reliability of differences between samples was determined using the Mann — Whitney U-test.

STUDY RESULTS AND DISCUSSION

Blood is a special, liquid and mobile connective tissue of the internal environment of the body. It is a fairly labile form, is in constant contact with all organs, tissues and is an indicator of the reaction to all changes in the body. The observations of the locomotion of individual blood components are considered an interior object of research, reflecting the physiological state of animals.

In the peripheral blood of the newborn calves of the experimental and control groups, the following values of erythrocytes and hemoglobin were recorded: 8.12—7.06·10¹²/L and 92.75—84.67 g/L, respectively, which was within the average statistical norm. The amount of these blood components on the first day of life most often depends on the nature of intrauterine development and the state of the mother’s body, as well as the activity of the formation of the hematopoietic system of the body and the redistribution of fetal and adult hemoglobin (Fig. 1).

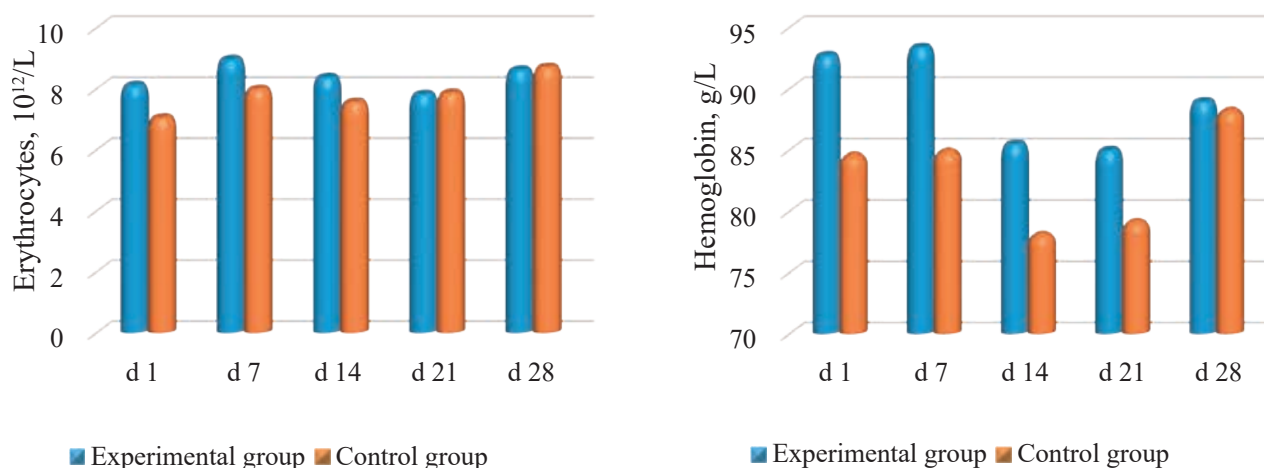


Fig. 1. Changes in the absolute number of erythrocytes and hemoglobin in calves of the 1st month of life

On day 14 of the study, the calves of the experimental group showed a decrease in hemoglobin content to $85.50 \pm 19.87 \cdot 10^{12}/L$, which was apparently due to the redistribution of the two types of hemoglobin in erythrocytes, and this amount was maintained until day 21. The fourth week of the study was characterized by a return of the values of this indicator to the level of the first day of the calves' life. A slightly different pattern of hemoglobin variations was found in the animals of the control group: from birth to 7 days of age within $84.67-85.00$ g/L, then a decrease was observed up to the third week of life. By day 28 of the experimental period, an increase in hemoglobin

content was recorded to a level slightly exceeding the values of newborn calves, which was possibly due to the complete replacement of fetal hemoglobin by adult hemoglobin. Consequently, the animals of both groups had almost the same expression of the respiratory blood function and the state of the general resistance of the body.

During the research period, some differences in the dynamics of changes in the number of erythrocytes and their sedimentation rate (ESR) were revealed. In the animals of the experimental group, up to day 14, a slight increase in erythrocytes and a significant ESR by 28.3 %, respectively, were observed (Fig. 2).

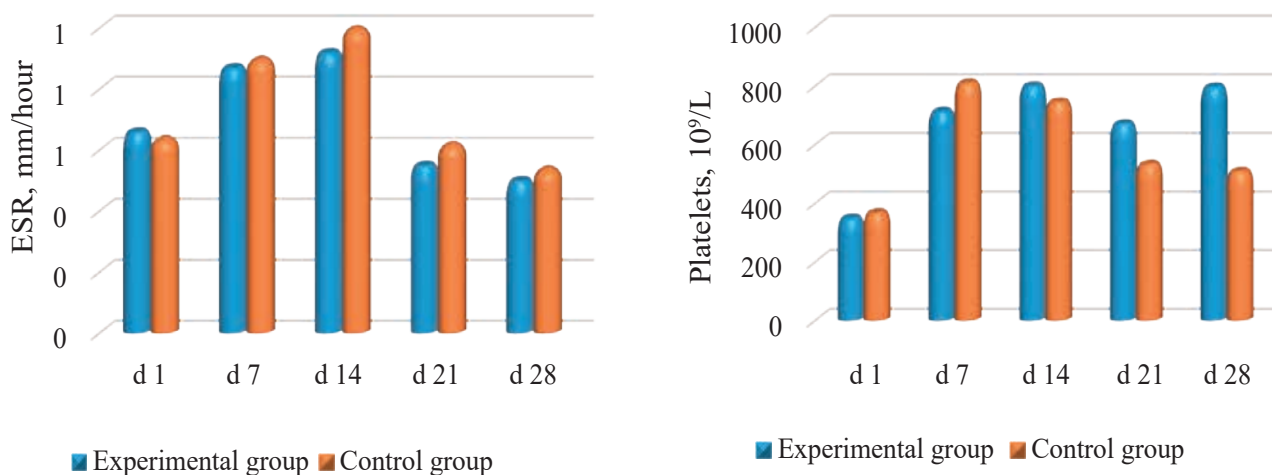


Fig. 2. Changes in ESR and absolute platelet count in calves of the 1st month of life

In the calves of the control group, variations in these indicators had a similar design, but with more intense dynamics. On day 14, an increase in erythrocytes and ESR to values of $8.00 \pm 1.49 \cdot 10^{12}/L$ (by 11.7 %) and 1.00 ± 0.05 mm/hour (by 36 %), respectively, was noted. At the final stage of the experiment, there was

recorded their return to the values similar to the neonatal period, but not going beyond the normative values.

Due to the fact that the hematopoietic system of newborn calves is not yet stable, fluctuations in the number of formed elements of the blood can change in a wide range.

At the initial stage of the study, low values of platelet concentration were detected in the animals of both groups. The increase in this indicator in the calves of the experimental group occurred over 2 weeks, and in the individuals of the control group — 1 week, with

subsequent stabilization and some reduction. However, they did not exceed the reference.

In our studies, we recorded some dynamics of the absolute values of leukocytes and lymphocytes, which remained within normal limits (Fig. 3).

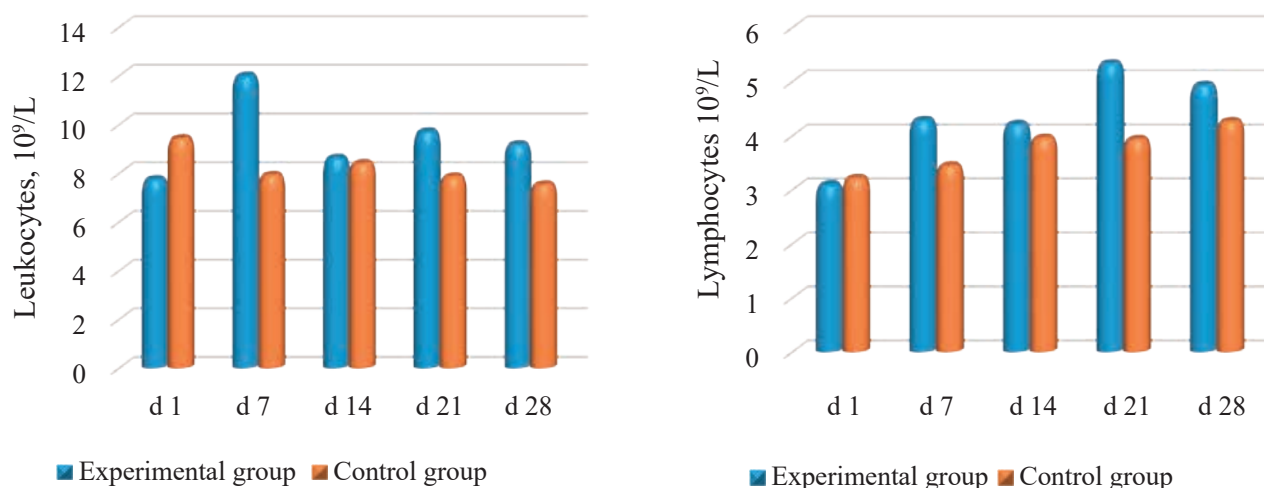


Fig. 3. Changes in the absolute number of leukocytes and lymphocytes in calves of the 1st month of life

To assess the development of the reactivity of the calves' organisms in the first month of life, the calculation of leukocyte indices was performed, which made it possible to identify some dependence on age and the use of the test composition by the individuals of the experimental group.

The Krebs index (KI) characterizes the maintenance of the general resistance of the organism, the degree of activity of specific immunity factors and the phagocytic reaction. When analyzing the leukogram of newborn calves, a predominance of neutrophils over lymphocytes was observed, and as the animals grew

older, the opposite picture was noted, which was reflected in the KI coefficient. Thus, up to day 28, an increase in the relative number of lymphocytes in the experimental and control groups by 1.5 and 1.4 times was observed, along with a decrease in the relative number of neutrophils by 1.5 and 1.7 times, respectively. In case of the hegemony of lymphocytes in the blood of the calves of the experimental group, the KI decreased to 0.66 ± 0.13 c. u. in relation to the initial digital values, while in the individuals of the control group, on the contrary, it increased on days 14 and 21 to 1.69 ± 0.08 and 1.59 ± 0.10 c. u., respectively (Table).

Table

Dynamics of changes in leukocyte indices in calves

Formula and name of the index	Group	d 1	d 7	d 14	d 21	d 28
1	2	3	4	5	6	7
KI = $\sum N/L$	Experimental	1.47	1.12	0.98	0.69	0.66
	Control	1.04	0.72	1.69	1.59	0.41
Llk = $L/\sum N$	Experimental	0.68	0.89	1.02	1.46	1.50
	Control	0.96	1.40	1.44	1.70	2.41
LIIkk = $(3 \cdot Nim + 2 \cdot Nst + Nsg) \cdot 1/(L + M) \cdot (E + 1)$	Experimental	0.33	0.91	0.52	0.51	0.32
	Control	0.37	0.61	0.53	0.35	0.34

Table (the end)

1	2	3	4	5	6	7
$LIIo = \sum N/L + M + E + B$	Experimental	1.23	0.98	0.88	0.59	0.59
	Control	0.94	0.58	0.61	0.51	0.39
$LSI = \sum N + B + E/M + L$	Experimental	1.46	1.01	0.91	0.62	0.65
	Control	1.01	0.58	0.63	0.57	0.40
$ILs = (LII + NIDE + LSI)/3$	Experimental	0.65	0.72	0.52	0.47	0.39
	Control	0.51	0.53	0.46	0.39	0.30
$NIDEd = (Nim + Nst + M)/Nsg$	Experimental	0.15	0.24	0.12	0.27	0.20
	Control	0.14	0.40	0.22	0.25	0.17
$ALI = (L + E)/(\sum N + B + M)$	Experimental	0.69	0.79	0.94	1.20	1.32
	Control	0.94	1.06	1.20	1.39	2.09
$AI = L/Nsg$	Experimental	0.74	0.98	1.04	1.54	1.60
	Control	1.03	1.48	1.49	1.80	2.50

When determining the lymphocyte index (LI according to G. I. Kozitsin), reflecting the relationship between the humoral and cellular links of the immune system and assessing the possible stress state due to the use of the FTFE composition, we revealed the following results. During the first month of life, the values of this index increased in animals of both groups: in the experimental group — by 2.2 times, in the control group — by 2.5 times. These changes suggest a balance of responses of the calves' organisms in the experimental and control groups during the period of growth and development.

The leukocyte shift index (LSI) is the ratio of the sum of all granulocytes to the sum of agranulocytes. Upon completion of the experimental period, a decrease in the values of this index was recorded in calves of both groups, but with varying degrees of severity. In the animals of the experimental group, the LSI decreased by 2.2 times, while in the individuals of the control group — by 2.5 times.

This decrease is associated with a decrease in the functional activity of neutrophils and activation of lymphocyte synthesis. In addition, we noted a redistribution of individual leukocyte populations due to some compensation of neutrophilic granulocytes by eosinophils and monocytes. Consequently, we did not detect signs of an inflammatory process in the body of calves of the first month of life, and a decrease in the

LSI values can be regarded as a positive indicator of animal development.

In our studies, an important stage was the determination of intoxication indices (LIIkk according to Ya. Ya. Kalf-Kalif, LIIo according to V. K. Ostrovskiy) and the level of intoxication (ILs according to P. V. Sarap), which reflect the reactivity of the organs of hematopoiesis and immunogenesis to intoxication, being an effective method for assessing endogenous intoxication (EI) [11].

Analyzing the obtained results, we revealed a slight increase in LIIkk and ILs in calves of both groups at the age of 7 days, in relation to baseline values. Subsequently, until the end of the experiment, the values of these indices only decreased, which indicated the absence of intoxication processes in the animals' bodies.

Endogenous intoxication has a phased nature of development, consisting of a quantitative and qualitative increase or redistribution of cells of the leukocyte formula. In order to determine the degree of endotoxicosis or its absence, the nuclear index of intoxication and the degree of endotoxicosis according to G. D. Dashtayants (NIDEd) were determined. By day 7 of the study, the values of this index increased in calves of both groups, but a more noticeable increase was observed in the control group. This may be due to the cytolysis of segmented neutrophils and possi-

ble active synthesis of monocytes and lymphocytes. The changes in the index during the experimental period indicate the rate of regeneration of neutrophils and monocytes, as well as the duration of their circulation in the circulatory system.

The degree of allergization was assessed by calculating the allergization index according to V. S. Tikhonchuk (ALI). When analyzing the obtained data, a slight increase in the ALI values was observed in calves of both groups during the experimental period, which indicated the absence of an allergic reaction. To determine specific adaptive reac-

tions of the body, the adaptation index according to L. Kh. Garkavi (AI) was calculated. It has been found that the AI values have the opposite dynamics to the Krebs index values. In the calves of the experimental group, this coefficient increased from 0.74 ± 0.05 c. u. to 1.60 ± 0.14 c. u., and in the individuals of the control group from 1.03 ± 0.10 c. u. to 2.50 ± 0.22 c. u., respectively.

To identify possible long-term reactions of the calves' organisms to the use of the FTFE composition, we observed the live weight gain over the course of one year.

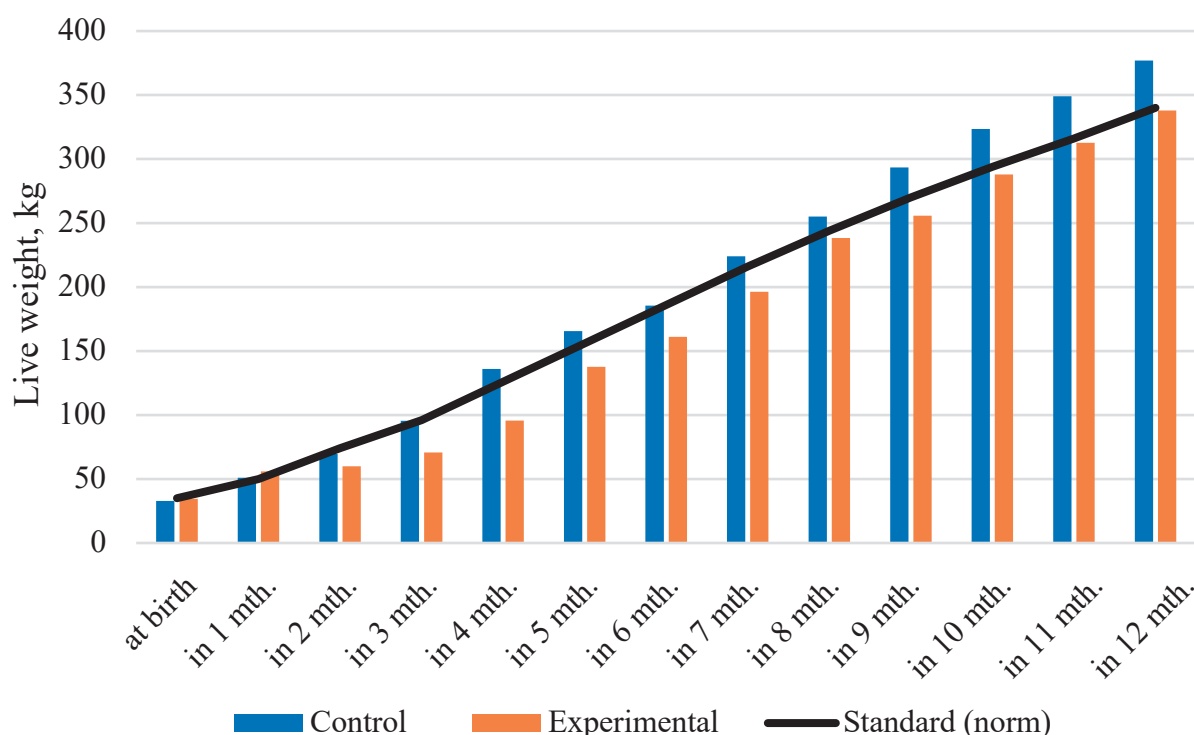


Fig. 4. Dynamics of changes in live weight of calves during the first year of life

At birth, the average weight of the calves was 32.8 ± 0.85 kg in the experimental group and 34.5 ± 0.97 kg in the control group. In the initial period of postnatal ontogenesis (three months after birth), the highest intensity of live weight gain was recorded. Thus, the weight increased by 2.9 times in the experimental animals, and in the control animals — only by 2.0 times relative to that at birth. During this period, the difference between the studied groups was 24.8 kg, which remained until the end of the sixth month of life. In the following months of observation, the average live weight of the calves in the experimental group slightly exceeded the standard indicators (by 3.6 % and 9.8 %), and in the individuals of the control group, on the contrary, they did not reach the envisaged planned

values ($-5.3 \dots -9.1$ %). Therefore, it can be assumed that the use of the FTFE composition in young Holstein cattle has an indirect positive effect on the dynamics of live weight (Fig. 4).

CONCLUSION

The identified changes in hematological indicators corresponded to the processes of hematopoiesis normalization and immunobiological reactivity restoration in the neonatal period of calves. Determination of leukocyte integral indices made it possible to increase the information content of traditional diagnostic tests and assess the degree of intoxication, adaptation and allergization of the animal organism when using the test composition.

In addition, it can be assumed that the use of the FTFE composition had a positive effect not only on stabilization of the quantitative composition of blood cells in the postnatal period of development, but also indirectly stimulated the live weight gain in calves.

REFERENCES

1. Kletikova L. V., Martynov A. N., Shishkina N. P. Physiological status of newborn Holstein calves // *Vestnik KrasGAU (Bulletin of KrasSAU)*. 2019. No. 8. P. 68—75.
2. Shkuratova I. A., Donnik I. M., Isaeva A. G., Krivonogova A. S. Ecological and biological characteristics of cattle in technogenesis conditions // *Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii (Normative-legal regulatory issues in veterinary medicine)*. 2015. No. 2. P. 366—369.
3. Gorelik O. V. Effect of maternal age on the growth and development of heifers during the preweaning period // *Glavnyy zootekhnik (Chief Zootechnician)*. 2016. No. 11. P. 41—46.
4. Lorets O. G., Gorelik O. V., Belyaeva N. V. Peculiarities of growth and development of heifers in case of a cold rearing method // *Agrarnyy vestnik Urala (Agrarian Bulletin of the Urals)*. 2017. No. 6 (160). P. 9—16.
5. Bazhinskaya A. A. Effect of feed contaminated with mycotoxins on the physiological state of pregnant cows and calves obtained from them // *The modern agro-industrial complex through the eyes of young scientists. Proceedings of the scientific and educational school of postgraduate students of the Association of agricultural universities of the Central Federal district of Russia*. 2017. P. 3—9.
6. Martynova A. Yu., Shevlyagin A. O., Gorelik O. V. Effect of the season of birth on the growth and development of replacement heifers // *Molodezh i nauka (Youth and Science)*. 2018. No. 5. P. 59.
7. Nezhdanov A. G., Shabunin S. V., Safonov V. A., Malanych E. V. Systemic solution to the problem of preserving the reproductive potential of dairy cattle in the context of industrial technologies for its operation // *Agrarian science — for agricultural production in Siberia, Kazakhstan, Mongolia, Belarus and Bulgaria. Collection of scientific reports of the XX International scientific and practical conference*. 2017. P. 260—262.
8. Chernitskiy A. E., Shabunin S. V., Safonov V. A. Pre-eclampsia in cows: functional disorders in the mother-placenta-fetus system and their consequences for the health of the offspring // *Selskokhozyaystvennaya biologiya (Agricultural biology)*. 2019. Vol. 54. No. 2. P. 246—258.
9. Trebukhov A. V. Features of metabolic disorders in calves born from cows with ketosis // *Vestnik Altayskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. Veterinariya i zootekhnika (Bulletin of Altai State Agrarian University. Veterinary Medicine and Zootechnics)*. 2021. No. 6 (200). P. 44—49.
10. Gadzaonov R. Pukhaeva I. Use of a probiotic in the prevention of dyspepsia in newborn calves. *Veterinariya selskokhozyaystvennykh zhivotnykh (Veterinary Medicine for Farm Animals)*. 2018. No. 6. P. 36—41.
11. Gundorov M. A., Petrova O. Yu., Pakhmurov I. A. Adaptation of newborn hypotrophic calves and its pharmacocorrection // *Uchenye zapiski KGAVM im. N. E. Baumana (Transactions of KSAVM named after N. E. Bauman)*. 2013. No. 2. P. 143—148.
12. Safonov V., Shishkina E. Selemag and hepatoprotector in the prevention of postpartum complications in cows // *Molochnoe i myasnoe skotovodstvo (Dairy and beef cattle breeding)*. 2011. No. 5. P. 25—26.
13. Chernitskiy A. E., Skogoreva T. S., Safonov V. A. Study of the features of microelement metabolism in the mother-placenta-fetus system in cattle // *Proceedings of the XXIII Congress of the Physiological Society named after I. P. Pavlov. Voronezh: Istoki Publishing House*. 2017. P. 2477—2479.
14. Ruvalcaba-Gómez J. M., Villaseñor-González F., Espinosa-Martínez M. A., Gómez-Godínez L. J., Rojas-Anaya E., Villagrán Z., Anaya-Esparza L. M., Buendía-Rodríguez G., Arteaga-Garibay R. I. Growth Performance and Fecal Microbiota of Dairy Calves Supplemented with Autochthonous Lactic Acid Bacteria as Probiotics in Mexican Western Family Dairy Farming // *Animals*. 2023. 13 (18). P. 2841. <https://doi.org/10.3390/ani13182841>
15. Kicheeva A. G., Tereshchenko V. A., Ivanov E. A., Ivanova O. V., Lyubimova Yu. G. Use of pine nut needles and shells in feeding farm animals and poultry (review) // *Vestnik NGAU (Novosibirskiy Gosudarstvennyy Agrarnyy Universitet) (Bulletin of NSAU (Novosibirsk State Agrarian University))*. No. 4 (61). 2021. P. 108—125.
16. Novikova T. V., Britvina I. V., Ryzhakina E. A., Korotkiy V. P. Analysis of the health status, milk productivity and reproduction of cows using a feed additive based on pine needles in their diets // *Molochnokhozyaystvennyy vestnik (Dairy Farming Bulletin)*. 2019. No. 1 (33). P. 27—39.
17. Korotkiy V. P., Bogolyubova N. V., Ryzhova E. S., Ryzhov V. A. Coniferous energy supplement — a source of energy and biologically active substances in cow diets // *Farm News*. 2018. No. 4. P. 58—59.
18. Savin M. A. Evaluation of the content of useful elements in a coniferous-vitamin feed additive from extruded pine foliage // *Discovery Science Research: collection of articles of the VI International scientific and practical conference (December 24, 2020)*. Petrozavodsk: Novaya Nauka. 2020. P. 118—122.
19. Kothari D., Oh J. S., Kim J. H., Lee W. D., Kim S. K. Effect of Dietary Supplementation of Fermented Pine Needle Extract on Productive Performance, Egg Quality, and Serum Lipid Parameters in Laying Hens // *Animals*. 2021. Vol. 11. P. 1—11.
20. Pratap Ch. R., Manju S., Vysakhi M. V., Shaji P. K., Achuthan N. G. Nutritional and antinutritional properties of the leaf of *Ardisia solanacea* Roxb. (Myrsinaceae), a fodder additive // *Intern. Food Res. J.* 2015. Vol. 22. I. 1 P. 324—331.

21. Coniferous feed additive Verva for animals and poultry // Monograph edited by: Corresponding Member of the RAS *Kuchin A. V.*, Cand. of Chem. Sciences *Khurshkaynen T. V.* — Syktyvkar, 2019. — 160 p.
22. *Pitirimov A. S., Sapozhnikov A. F., Filatov A. V.* Quality of quail eggs when using the dietary supplement Verva // Collection of articles of the All-Russian scientific and practical conference “Modern scientific and practical achievements in veterinary medicine”. Kirov. 2017. P. 58—59.
23. *Shemuranova N. A., Filatov A. V., Sapozhnikov A. F.* Fattening and meat qualities of pigs when using the fir extract Verva // *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* (Agrarian science of the Euro-North-East). No. 3 (52). 2016. P. 56—60.
24. *Kondrakhin I. P.* Methodical guidelines for the clinical examination of farm animals. Simferopol, 2008. 30 p.
25. *Grin V. K., Fistal E. Ya., Speranskiy I. I.* Integral hematological indices of the leukocyte formula as a criterion for assessing the severity of burn disease // *Kombustologiya* (Combustiology). 2006. No. 27. P. 43—45.
26. *Zhukov A. P., Bikchentaeva G. Yu., Rostova N. Yu.* Morphological indicators and blood indices in Canadian-bred Holsteins during long-term adaptation // *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* (Bulletin of Orenburg State Agrarian University). 2012. No. 2 (34). P. 86—90.
27. *Sarap P. V., Tutynin K. V., Bulygin G. V.* Method for predicting and identifying complications in the early post-operative period: Patent, RL2190216. GO1 No.33/39. 27.09.2009.
28. *Garkavi L. Kh., Tolmachev G. N., Mikhaylov N. Yu., Esipov Yu. V., Benya F. M., Zverintseva M. M., Dolbila T. V., Plyaka P. S.* Adaptation reactions and reactivity levels as effective diagnostic indicators of pre-clinical conditions // *Vestnik Yuzhnogo nauchnogo tsentra* (Bulletin of the Southern Scientific Center). 2007. Vol. 3. No. 1. P. 61—66.
29. *Kalf-Kalif Ya. Ya.* On the leukocyte index of intoxication and its practical significance // *Vrachebnoe delo* (Medical practice). 1941. No. 1. P. 31—35.
30. *Speranskiy I. I., Samoylenko G. E., Lobacheva M. V.* Clinical blood analysis — have all its possibilities been exhausted? Integral indices of intoxication as criteria for assessing the severity of endogenous intoxication, its complications and the efficacy of treatment // Proceedings of the II All-Russian scientific and practical conference “Intensive medical care: problems and solutions” (October 7—8, 2004, Leninsk-Kuznetskiy). Novosibirsk. 2004. P. 28—29.
31. *Ostrovskiy V. K., Mashchenko A. V., Yangolenko D. V., Makarov S. V.* Blood indicators and leukocyte index of intoxication in assessing the severity and determining the prognosis of inflammatory, purulent and purulent-destructive diseases // *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* (Clinical laboratory diagnostics). 2006. No. 6. P. 50—53.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

- O. Yu. Oparina** — Candidate of Veterinary Sciences;
A. S. Krasnoperov — Candidate of Veterinary Sciences;
S. V. Malkov — Candidate of Veterinary Sciences;
A. I. Belousov — Doctor of Veterinary Sciences;
A. E. Chernitskiy — Doctor of Biological Sciences.

The article was submitted 10.10.2024.

Научная статья

УДК 619:618.14—002:615.862:636.4

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2024.4.119

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ НА ПОКАЗАТЕЛИ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У СВИНОМАТОК С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ПРОЦЕССАМИ В РЕПРОДУКТИВНЫХ ОРГАНАХ

Игорь Александрович Болдырев*, Юрий Николаевич Бригадиров**,
Лилия Валерьевна Ческидова***, Галина Николаевна Близнецова****

* ** *** **** *Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт*

патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия

* *asp.farm@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2114-2772>*

** *<https://orcid.org/0000-0003-3804-1732>*

*** *<https://orcid.org/0000-0003-0196-1754>*

**** *<https://orcid.org/0000-0002-1042-9279>*

Аннотация. Одним из патогенетических звеньев развития воспалительного процесса в репродуктивных органах свиноматок является повышенная активность процессов перекисного окисления липидов и снижение антиоксидантной защиты. В связи с этим, в комплексную схему лечения послеродового эндометрита необходимо включать препараты, способствующие коррекции интенсивности процессов свободно-радикального окисления и поддержанию антиоксидантного статуса. Опыт был проведен на больных послеродовым эндометритом свиноматках, которым для лечения применяли комплексный антимикробный препарат — контрольная группа, и дополнительно вводили Простимул — опытная группа. Установлено, что при выздоровлении у животных отмечается стабилизация процессов ПОЛ за счет более активного функционирования различных звеньев системы АОЗ, однако при использовании препарата Простимул положительные изменения более выражены. Комплексная терапия обеспечила выздоровление 92,3 % животных, что было выше эффективности антимикробной терапии на 19,6 %. Применение Простимула способствовало снижению МДА на 5,6 %, СМП на 9,7 %, МСМ238 на 9,1 %, МСМ254 на 13,9 %, МСМ282 на 17,2 %, ИЭИ на 12,6 % и NOx на 32,2 % по сравнению с животными контрольной группы. При этом активность каталазы была достоверно выше на 38,4 %, ГПО на 20,2 %, а уровень витаминов А, Е и С на 9,8 %, 13,7 % и 10,3 % соответственно. Таким образом, применение препарата Простимул в комплексной схеме лечения послеродового эндометрита способствовало функционированию системы антиоксидантной защиты у свиноматок на более высоком уровне, о чем свидетельствует также более интенсивная утилизация побочных продуктов свободно-радикального окисления и купирование нитрозативного стресса.

Ключевые слова: послеродовой эндометрит, терапия, Простимул, антиоксидантная защита, эндогенная интоксикация, свиноматки

Нарушение воспроизводительной функции свиноматок вследствие развития воспалительных процессов в их репродуктивных органах является одной из основных причин снижения рентабельности свиноводства. Несоблюдение технологических требований, нарушение режима кормления и содержания приводит к увеличению стрессовой нагрузки на организм животных, снижению их адаптационных возможностей и иммунитета, что способствует размножению условно-патогенных и патогенных

микроорганизмов (стафилококков, стрептококков, протей, кишечной палочки и других), которые присутствуют как в монокультуре, так и в различных ассоциациях [1, 2].

Патологии органов размножения и молочной железы воспалительного характера у свиноматок сопровождаются проявлением синдрома эндогенной интоксикации, который определяет степень и тяжесть заболевания [1, 3, 4]. Повреждающее действие активных форм кислорода, свободных ради-

калов и микробных токсинов, при недостаточности детоксикационных и антиокислительных способностей организма приводит к снижению иммунологической резистентности и развитию хронического воспаления [5]. В связи с этим, научное обоснование применения при послеродовых патологиях свиноматок новых эффективных лечебно-профилактических средств и схем является актуальной задачей ветеринарной фармакологии.

Цель работы состояла в оценке влияния комплексной терапии на показатели эндогенной интоксикации и системы антиоксидантной защиты у свиноматок с послеродовым эндометритом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для эксперимента было сформировано две группы свиноматок, больных послеродовым эндометритом, массой 180—220 кг. Диагноз ставили на основании данных анамнеза и клинического обследования.

Свиноматкам контрольной группы ($n = 11$) для лечения внутримышечно применяли комплексный препарат на основе марбофлоксацина дозе 1 мл на 50 кг массы тела один раз в сутки в течение 3 дней, животным опытной группы ($n = 13$) дополнительно внутримышечно вводили Простимул в дозе 10 мл двукратно с интервалом 48 часов. Простимул представляет собой раствор для инъекций, который в 1 мл содержит рекомбинантный цитокин I типа, витамины А, Е и С, а также вспомогательные компоненты.

От свиноматок до и после лечения брали пробы крови для изучения влияния терапии на показатели перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты с помощью спектрофотометра UV-1700 «Shimadzu». Активность каталазы и глутатионпероксидазы (ГПО), концентрацию малонового диальдегида (МДА), стабильных метаболитов оксида азота (NO_x), веществ средней молекулярной массы (МСМ_{238} , МСМ_{254} , МСМ_{282}) с последующим расчетом индекса эндогенной интоксикации (ИЭИ), витамина А, Е и С определяли согласно установленных методик [6—8].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате изучения процессов свободно-радикального окисления установлено, что у свиноматок опытной и контрольной групп в процессе выздоровления концентрация МДА снижается на 20,2 % ($P < 0,001$) и 24,7 % ($P < 0,001$) соответственно (табл. 1). При этом отмечается уменьшение ИЭИ на 10,7 % ($P < 0,01$) и 21,9 % ($P < 0,001$), вследствие уменьшения содержания в крови животных СМП на 24,2 % ($P < 0,001$) и 31,6 % ($P < 0,001$), МСМ_{238} на 15,4 % ($P < 0,001$) и 23,1 % ($P < 0,001$), МСМ_{254} на 20,0 % ($P < 0,005$) и 31,1 % ($P < 0,001$), МСМ_{282} на 14,7 % ($P < 0,05$) и 29,4 % ($P < 0,001$) соответственно.

Аналогичные изменения установлены в отношении NO_x , уровень которого также был ниже у животных после лечения на 62,0 % ($P < 0,001$) и 74,2 % ($P < 0,001$) соответственно.

Таблица 1

Показатели эндогенной интоксикации и концентрация оксида азота у свиноматок до и после лечения

Показатели	До лечения	После лечения	
		I группа	II группа
МДА, мкмоль/л	1,78 ± 0,02	1,42 ± 0,03**	1,34 ± 0,03**
МСМ_{238} , у. е.	0,78 ± 0,01	0,66 ± 0,03**	0,60 ± 0,01**
МСМ_{254} , у. е.	0,45 ± 0,01	0,36 ± 0,03**	0,31 ± 0,01**
МСМ_{282} , у. е.	0,34 ± 0,01	0,29 ± 0,02*	0,24 ± 0,01**
СМП, у. е.	0,95 ± 0,01	0,72 ± 0,03**	0,65 ± 0,01**
ИЭИ, у. е.	16,9 ± 0,30	15,10 ± 0,46*	13,2 ± 0,37**
NO_x , мкмоль/л	137,2 ± 5,08	52,20 ± 2,01**	35,40 ± 1,69**

* $P < 0,05—0,01$

** $P < 0,005—0,001$ относительно показателей до лечения

Стоит отметить, что у свиноматок опытной группы по сравнению с контрольной утилизация побочных продуктов свободно-радикального окисления протекала более интенсивно, о чем свидетельствует достоверно более низкие значения МДА на 5,6 % ($P < 0,05$), СМП на 9,7 % ($P < 0,05$), МСМ₂₃₈ на 9,1 % ($P < 0,05$), МСМ₂₅₄ на 13,9 % ($P < 0,05$), МСМ₂₈₂ на 17,2 % ($P < 0,05$), и как следствие, ИЭИ на 12,6 % ($P < 0,01$).

Концентрация NO_x была на 32,2 % ($P < 0,001$) меньше у животных, которым дополнительно вводили Простимул, что указывает на снижение его выработки и купирование нитрозативного стресса.

Динамика изменений показателей антиоксидантной системы свиноматок с послеродовым эндометритом до и после лечения была не такой однозначной (табл. 2).

Таблица 2

Показатели системы антиоксидантной защиты у свиноматок до и после лечения

Показатели	До лечения	После лечения	
		I группа	II группа
Каталаза, ммоль H ₂ O ₂ /л·мин	39,4 ± 0,80	35,20 ± 2,09	48,70 ± 1,17**
ГПО, ммоль GSH/л·мин	12,8 ± 0,16	11,40 ± 0,37*	13,70 ± 0,34*
Витамин А, мкмоль/л	0,95 ± 0,01	1,02 ± 0,04	1,12 ± 0,03**
Витамин Е, мкмоль/л	12,5 ± 0,15	13,10 ± 0,38	14,90 ± 0,34**
Витамин С, мкмоль/л	25,4 ± 0,33	28,20 ± 0,75*	31,10 ± 0,74**

* $P < 0,05$ —0,01

** $P < 0,001$ относительно показателей до лечения

У животных, которым применяли один антимикробный препарат, произошло снижение активности каталазы и ГПО на 10,7 % и 10,9 % ($P < 0,01$) соответственно, что, по-видимому, является результатом повышенного расхода на нейтрализацию накопленных первичных продуктов пероксидации вследствие воспаления и интенсивных окислительных процессов. У свиноматок, которым дополнительно вводили Простимул отмечено увеличение активности ферментов на 23,6 % ($P < 0,001$) и 7,0 % ($P < 0,05$) соответственно, что, по-видимому, связано с положительным влиянием препарата и поддержанием баланса ПОЛ-АОЗ.

У свиноматок контрольной группы, которым применяли только этиотропную терапию, содержание витамина А в крови было выше на 7,4 %, витамина Е на 4,8 % и витамина С 11,0 % ($P < 0,01$) по сравнению с больными животными. В то время как, в опытной группе концентрация витаминов возросла на 17,9 % ($P < 0,001$), 19,2 % ($P < 0,001$) и 22,4 % ($P < 0,001$) соответственно.

Дополнительно введение больным послеродовым эндометритом свиноматкам препарата Простимул способствовало поддержанию функционирования системы антиоксидантной защиты

на более высоком уровне, о чем свидетельствуют показатели ферментативного и неферментативного звена. Так, в опытной группе по сравнению с контрольной активность каталазы и ГПО была выше на 38,4 % ($P < 0,001$) и 20,2 % ($P < 0,002$) соответственно, а содержание витаминов А, Е и С в крови — на 9,8 % ($P < 0,05$), 13,7 % ($P < 0,01$) и 10,3 % ($P < 0,02$) соответственно.

Известно, что в этиологии и патогенезе послеродовой патологии лежит функциональная недостаточность системы антиоксидантной защиты, сопровождающаяся накоплением токсических продуктов пероксидации липидов и метаболическими нарушениями в организме животных. Препараты с антиоксидантной активностью влияют на показатели АОЗ животных, способствуя нормализации уровня активных форм кислорода при воспалении [9].

В последние годы разработан широкий спектр лекарственных средств, главными компонентами которых являются рекомбинантные видоспецифичные интерфероны, которые обеспечивают выраженный иммуномодулирующий и антистрессовый эффект [10, 11, 12, 13]. Доказано, что применение интерферонсодержащих препаратов животным

способствует повышению активности ферментов антиоксидантной защиты, а также снижению интенсивности процессов ПОЛ, уровня МДА, СМП и эндогенной интоксикации, являющихся одной из причин, приводящих к супрессии факторов неспецифической иммунологической резистентности организма [14].

В результате проведенных исследований установлено, что дополнительное введение в схему лечения свиноматок с послеродовым эндометритом препарата Простимул обеспечило выздоровление 92,3 % животных, и превысило эффективность терапии с применением антимикробного препарата на основе марбофлоксацина на 19,6 %.

Применение Простимула свиноматкам оказало более существенное влияние на антиоксидантный статус, чем при использовании только этиотропной терапии, видимо, за счет содержания в препарате витаминов А, Е и С которые потенцируют эффективность интерферонов и повышают активность неспецифического иммунитета подопытных животных [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенные исследования показали высокую эффективность терапии послеродового эндометрита у свиноматок с дополнительным двукратным введением препарата Простимул в дозе 10 мл. Свободнорадикальное окисление в организме подопытных животных при комплексном лечении осуществлялось на более низком уровне, на фоне снижения эндогенной интоксикации и повышения активности показателей ферментативного и неферментативного звеньев системы антиоксидантной защиты. Простимул можно рекомендовать для коррекции интенсивности процессов перекисного окисления липидов и поддержания антиоксидантного статуса у свиноматок с воспалительными процессами в репродуктивных органах в послеродовой период.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Бригадиров Ю. Н. Показатели эндогенной интоксикации, оксида азота и иммунного статуса при воспалительных процессах в половых органах свиноматок / Ю. Н. Бригадиров, В. Н. Коцарев, И. Т. Шапошников и др. // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2018. — № 3(4). — С. 110—115.
2. Попов В. С. Этиологические особенности иммунодефицитов у свиней в условиях промышленной технологии / В. С. Попов, Н. В. Самбуров, А. А. Зорикова // Вестник Курской государственной академии. — 2015. — № 4. — С. 63—67.
3. Bel'skaya L. V. Endogenous intoxication and saliva lipid peroxidation in patients with lung cancer / L. V. Bel'skaya, V. K. Kosenok, G. Massard // *Diagnostics (Basel)*. — 2016. — No. 6 (4). — P. 39.
4. Gotardo A. T. Intoxication by cyanide in pregnant sows: prenatal and postnatal evaluation / A. T. Gotardo, I. M. Hueza, H. Manzano et al. // *J Toxicol*. — 2015. — N2015. — P. 407—654.
5. Рецкий М. И. Влияние дисбаланса активных форм кислорода и азота на развитие послеродовых осложнений у коров / М. И. Рецкий, Г. Н. Близнецова, А. Г. Нежданов и др. // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины». — 2011. — Т. 47. — № 2—2. — С. 102—104.
6. Габриэлян Н. И. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях: методические рекомендации / Н. И. Габриэлян, Э. Р. Левицкий, А. А. Дмитриев. — М., 1985. — 24 с.
7. Гребнева О. Л. Методика расчета индекса низкомолекулярных и среднемолекулярных веществ в сыворотке крови / О. Л. Гребнева, Е. А. Ткачук, В. О. Чубейко // Клиническая лабораторная диагностика. — 2006. — № 2. — С. 17—18.
8. Рецкий М. И. Методические положения по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма / М. И. Рецкий, С. В. Шабунин, Г. Н. Близнецова и др. — Воронеж, 2010. — 70 с.
9. Нежданов А. Г. Гормональный и антиоксидантный статус бесплодных коров / А. Г. Нежданов, М. И. Рецкий, В. А. Сафонов и др. // Ветеринария. — 2012. — № 10. — С. 38—41.
10. Востроилова Г. А. Изучение эффективности аминокислот при технологическом стрессе на свиноводческих комплексах / Г. А. Востроилова, Н. А. Хохлова, П. А. Паршин и др. // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2018. — № 2 (3). — С. 37—41.
11. Прокулевич В. А. Ветеринарные препараты на основе интерферона / В. А. Прокулевич, М. И. Потапович // Вестник БГУ. — Серия 2: Химия. Биология. География. — 2011. — № 3. — С. 51—54.
12. Ческидова Л. В. Перспективные направления создания лекарственных средств нового поколения для животных с применением биотехнологий (обзор) / Л. В. Ческидова, И. В. Брюхова, Н. А. Григорьева // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2019. — № 2 (7). — С. 29—38. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2019.2.29
13. Yousefi N. New product development in the pharmaceutical industry: evidence from a generic market / N. Yousefi, G. Mehralian, H. R. Rasekh et al. // *Iran J. Pharm. Res.* — 2017. — Vol. 16 (2). — P. 834—846.
14. Шахов А. Г. Влияние интерферонсодержащих препаратов на про- и антиоксидантный статус у новорожденных поросят / А. Г. Шахов, Л. Ю. Сашнина,

Г. А. Востроилова и др. // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины». — 2022. — Т. 58. — № 1. — С. 109—113. — DOI: 10.52368/2078-0109-58-1-109-113

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

И. А. Болдырев — аспирант;

Ю. Н. Бригадиров — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник;

Л. В. Ческидова — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник;

Г. Н. Блинецова — доктор биологических наук, заведующая лабораторией.

Статья поступила в редакцию 28.10.2024.

EFFECT OF COMPLEX THERAPY ON INDICATORS OF ENDOGENOUS INTOXICATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION IN SOWS WITH INFLAMMATORY PROCESSES IN THE REPRODUCTIVE ORGANS

Igor Aleksandrovich Boldyrev*, Yuriy Nikolaevich Brigadirov**, Liliya Valeryevna Cheskidova***, Galina Nikolaevna Bliznetsova****

*, **, ***, *****All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia*

asp.farm@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2114-2772>

***<https://orcid.org/0000-0003-3804-1732>*

****<https://orcid.org/0000-0003-0196-1754>*

*****<https://orcid.org/0000-0002-1042-9279>*

Abstract. One of the pathogenetic links in the inflammatory process development in the reproductive organs of sows is the increased activity of lipid peroxidation processes and decreased antioxidant protection. In this regard, the complex treatment regimen for postpartum endometritis should include drugs that help to correct the intensity of free-radical oxidation processes and maintain antioxidant status. The experiment was conducted on sows with postpartum endometritis, who were treated with a complex antimicrobial drug — the control group, and additionally administered Prostimul — the experimental group. It has been found that during recovery, the animals show stabilization of LPO processes due to more active functioning of various links in the antioxidant defense system, but when using Prostimul, the positive changes are more pronounced. Complex therapy ensured recovery of 92.3 % of animals, which was by 19.6 % higher than the efficacy of antimicrobial therapy. The use of Prostimul contributed to the reduction of MDA by 5.6 %, MMP — by 9.7 %, MWM238 — by 9.1 %, MWM254 — by 13.9 %, MWM282 — by 17.2 %, IEI — by 12.6 % and NOx — by 32.2 %, compared to the animals of the control group. At the same time, catalase activity was significantly higher by 38.4 %, GPO — by 20.2 %, and the level of vitamins A, E and C — by 9.8 %, 13.7 % and 10.3 %, respectively. Thus, the use of Prostimul in the complex treatment regimen for postpartum endometritis contributed to the functioning of the antioxidant defense system in sows at a higher level, as evidenced by more intensive utilization of by-products of free radical oxidation and reduction of nitrosative stress.

Keywords: postpartum endometritis, therapy, Prostimul, antioxidant protection, endogenous intoxication, sows

INTRODUCTION

Disruption of the reproductive function of sows due to the inflammatory processes development in their reproductive organs is one of the main reasons for the decrease in the profitability of pig breeding. Failure to comply with technological requirements, violation of the feeding and keeping regime leads to an increase in the stress load on the animal's body, a decrease in their adaptive capabilities and immunity that contributes to the proliferation of opportunistic and pathogenic microorganisms (staphylococci, streptococci, *Proteus*, *Escherichia coli* and others), which are present both in monoculture and in various associations [1, 2].

Inflammatory pathologies of the reproductive organs and mammary gland in sows are accompanied

by the manifestation of endogenous intoxication syndrome, which determines the degree and severity of the disease [1, 3, 4]. The damaging effect of active forms of oxygen, free radicals and microbial toxins, with insufficient detoxification and antioxidant capabilities of the body, leads to a decrease in immunological resistance and the development of chronic inflammation [5]. In this regard, scientific substantiation of the use of new effective therapeutic and prophylactic agents and regimens for postpartum pathologies in sows is an urgent task of veterinary pharmacology.

The objective of the work was to assess the effect of complex therapy on the indicators of endogenous intoxication and the antioxidant defense system in sows with postpartum endometritis.

MATERIAL AND METHODS

For the experiment, two groups of sows with postpartum endometritis, weighing 180–220 kg, were formed. The diagnosis was based on the anamnesis and clinical examination.

The sows of the control group ($n = 11$) were intramuscularly administered a complex drug based on marbofloxacin at a dose of 1 ml per 50 kg of body weight once a day for 3 days; the animals of the experimental group ($n = 13$) were additionally intramuscularly administered Prostimul at a dose of 10 ml twice with an interval of 48 hours. Prostimul is an injection solution, 1 ml of which contains recombinant cytokine type I, vitamins A, E and C, as well as auxiliary components.

Blood samples were taken from the sows before and after treatment to study the effect of therapy on lipid peroxidation indicators and the antioxidant defense system using a UV-1700 Shimadzu spectrophotometer. The activity of catalase and glutathione peroxidase (GPO), the concentration of malondialdehyde (MDA), stable metabolites of nitric oxide (NO_x), substances of medium weight molecules (MWM_{238} , MWM_{254} , MWM_{282}) with subsequent calculation of the index of endogenous intoxication (IEI), vitamins A, E and C were determined according to established methods [6–8].

STUDY RESULTS AND DISCUSSION

As a result of the study of free-radical oxidation processes, it has been found that in the sows of the experimental and control groups during the recov-

ery process, the concentration of MDA decreases by 20.2 % ($P < 0.001$) and 24.7 % ($P < 0.001$), respectively (Table 1).

At the same time, a decrease in IEI by 10.7 % ($P < 0.01$) and 21.9 % ($P < 0.001$) is noted, due to a decrease in the blood content of MMP in the animals by 24.2 % ($P < 0.001$) and 31.6 % ($P < 0.001$), MWM_{238} — by 15.4 % ($P < 0.001$) and 23.1 % ($P < 0.001$), MWM_{254} — by 20.0 % ($P < 0.005$) and 31.1 % ($P < 0.001$), MWM_{282} — by 14.7 % ($P < 0.05$) and 29.4 % ($P < 0.001$), respectively.

Similar changes were found in relation to NO_x , the level of which was also lower in the animals after treatment by 62.0 % ($P < 0.001$) and 74.2 % ($P < 0.001$), respectively.

It is worth noting that in the sows of the experimental group, compared to the control group, the utilization of by-products of free radical oxidation was more intense, as evidenced by significantly lower values of MDA by 5.6 % ($P < 0.05$), MMP — by 9.7 % ($P < 0.05$), MWM_{238} — by 9.1 % ($P < 0.05$), MWM_{254} — by 13.9 % ($P < 0.05$), MWM_{282} — by 17.2 % ($P < 0.05$), and as a consequence, IEI — by 12.6 % ($P < 0.01$).

The concentration of NO_x was by 32.2 % ($P < 0.001$) lower in the animals, who were additionally administered Prostimul, which indicated a decrease in its production and reduction of nitrosative stress.

The dynamics of changes in the antioxidant system indicators of sows with postpartum endometritis before and after treatment were not so clear (Table 2).

Table 1

Indicators of endogenous intoxication and concentration of nitric oxide in sows before and after treatment

Indicators	Before treatment	After treatment	
		Group I	Group II
MDA, $\mu\text{mol/L}$	1.78 ± 0.02	$1.42 \pm 0.03^{**}$	$1.34 \pm 0.03^{**}$
MWM_{238} , c. u.	0.78 ± 0.01	$0.66 \pm 0.03^{**}$	$0.60 \pm 0.01^{**}$
MWM_{254} , c. u.	0.45 ± 0.01	$0.36 \pm 0.03^{**}$	$0.31 \pm 0.01^{**}$
MWM_{282} , c. u.	0.34 ± 0.01	$0.29 \pm 0.02^*$	$0.24 \pm 0.01^{**}$
MMP, c. u.	0.95 ± 0.01	$0.72 \pm 0.03^{**}$	$0.65 \pm 0.01^{**}$
IEI, c. u.	16.9 ± 0.30	$15.10 \pm 0.46^*$	$13.2 \pm 0.37^{**}$
NO_x , $\mu\text{mol/L}$	137.2 ± 5.08	$52.20 \pm 2.01^{**}$	$35.40 \pm 1.69^{**}$

* $P < 0.05$ —0.01

** $P < 0.005$ —0.001 relative to the indicators before treatment

Table 2

Indicators of the antioxidant defense system in sows before and after treatment

Indicators	Before treatment	After treatment	
		Group I	Group II
Catalase, mmol H ₂ O ₂ /L·min	39.4 ± 0.80	35.20 ± 2.09	48.70 ± 1.17**
GPO, mmol GSH/L·min	12.8 ± 0.16	11.40 ± 0.37*	13.70 ± 0.34*
Vitamin A, µmol/L	0.95 ± 0.01	1.02 ± 0.04	1.12 ± 0.03**
Vitamin E, µmol/L	12.5 ± 0.15	13.10 ± 0.38	14.90 ± 0.34**
Vitamin C, µmol/L	25.4 ± 0.33	28.20 ± 0.75*	31.10 ± 0.74**

* $P < 0.05$ —0.01** $P < 0.001$ relative to the indicators before treatment

In the animals that were administered one antimicrobial drug, there was a decrease in the activity of catalase and GPO by 10.7 % and 10.9 % ($P < 0.01$), respectively, which was apparently the result of increased consumption for neutralization of accumulated primary peroxidation products due to inflammation and intense oxidative processes. In the sows that were additionally administered Prostimum, there was noted an increase in enzyme activity by 23.6 % ($P < 0.001$) and 7.0 % ($P < 0.05$), respectively, which was apparently due to the positive effect of the drug and maintenance of the LPO-AOD balance.

In the sows of the control group, which were given only etiotropic therapy, the blood content of vitamin A was higher by 7.4 %, vitamin E — by 4.8 % and vitamin C — by 11.0 % ($P < 0.01$), compared to sick animals. While in the experimental group the concentration of vitamins increased by 17.9 % ($P < 0.001$), 19.2 % ($P < 0.001$) and 22.4 % ($P < 0.001$), respectively.

Additional administration of Prostimum to sows with postpartum endometritis contributed to maintaining the functioning of the antioxidant defense system at a higher level, as evidenced by the indicators of the enzymatic and non-enzymatic link. Thus, in the experimental group, compared with the control, the activity of catalase and GPO was higher by 38.4 % ($P < 0.001$) and 20.2 % ($P < 0.002$), respectively, and the blood content of vitamins A, E and C was higher by 9.8 % ($P < 0.05$), 13.7 % ($P < 0.01$) and 10.3 % ($P < 0.02$), respectively.

It is known that the etiology and pathogenesis of postpartum pathology is due to the functional insufficiency of the antioxidant defense system, accompanied by the accumulation of toxic lipid peroxidation

products and metabolic disorders in the animal body. Drugs with antioxidant activity affect the antioxidant activity indicators of animals, helping to normalize the level of active oxygen forms during inflammation [9].

In recent years, a wide range of drugs has been designed, the main components of which are recombinant species-specific interferons, which provide a pronounced immunomodulatory and anti-stress effect [10, 11, 12, 13]. It has been proven that the use of interferon-containing drugs in animals helps to increase the activity of antioxidant defense enzymes, as well as reduce the intensity of LPO processes, the level of MDA, MMP and endogenous intoxication, which are one of the reasons leading to the suppression of factors of non-specific immunological body resistance [14].

As a result of the studies, it was found that the additional administration of Prostimum into the treatment regimen for sows with postpartum endometritis ensured the recovery of 92.3 % of animals, and exceeded the therapeutic efficacy of using an antimicrobial drug based on marbofloxacin by 19.6 %. The use of Prostimum in sows has had a more significant effect on the antioxidant status than when using only etiotropic therapy, apparently due to the content of vitamins A, E and C in the drug, which potentiate the efficacy of interferons and increase the activity of non-specific immunity in experimental animals [14].

CONCLUSION

Thus, the conducted studies have shown high efficacy of postpartum endometritis therapy in sows with additional double administration of Prostimum at a dose of 10 ml. Free radical oxidation in the body of experimental animals during complex treatment was carried out at a lower level, against the background of a de-

crease in endogenous intoxication and an increase in the activity of the enzymatic and non-enzymatic links of the antioxidant defense system. Prostimul can be recommended for the correction of the intensity of lipid peroxidation processes and keeping the antioxidant status in sows with inflammatory processes in the reproductive organs in the postpartum period.

REFERENCES

1. *Brigadirov Yu. N.* Indicators of endogenous intoxication, nitric oxide and immune status in case of inflammatory processes in the genital organs of sows / Yu. N. Brigadirov, V. N. Kotsarev, I. T. Shaposhnikov et al. // *Bulletin of Veterinary Pharmacology*. — 2018. — No. 3 (4). — P. 110—115.
2. *Popov V. S.* Etiological peculiarities of immunodeficiencies in pigs under industrial technology / V. S. Popov, N. V. Samburov, A. A. Zorikova // *Vestnik Kurskoy gosudarstvennoy akademii (Bulletin of Kursk State Academy)*. — 2015. — No. 4. — P. 63—67.
3. *Bel'skaya L. V.* Endogenous intoxication and saliva lipid peroxidation in patients with lung cancer / L. V. Bel'skaya, V. K. Kosenok, G. Massard // *Diagnostics (Basel)*. — 2016. — No.6 (4). — P. 39.
4. *Gotardo A. T.* Intoxication by cyanide in pregnant sows: prenatal and postnatal evaluation / A. T. Gotardo, I. M. Hueza, H. Manzano et al. // *J Toxicol*. — 2015. — No.2015. — P. 407—654.
5. *Retskiy M. I.* Effect of imbalance of active oxygen and nitrogen species on the development of postpartum complications in cows / M. I. Retskiy, G. N. Bliznetsova, A. G. Nezhdanov et al. // *Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya Vitebskaya ordena Znak pocheta gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsiny (Transactions of the educational establishment Vitebsk Order "Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine)*. — 2011. — V. 47. — No. 2—2. — P. 102—104.
6. *Gabrielyan N. I.* Screening method for determining medium-sized molecules in biological fluids: guidelines / N. I. Gabrielyan, E. R. Levitskiy, A. A. Dmitriev. — M., 1985. — 24 p.
7. *Grebneva O. L.* Methodology for calculating the index of low-molecular and medium-molecular substances in blood serum / O. L. Grebneva, E. A. Tkachuk, V. O. Chubeyko // *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika (Clinical laboratory diagnostics)*. — 2006. — No. 2. — P. 17—18.
8. *Retskiy M. I.* Methodical provisions for the study of free radical oxidation processes and the antioxidant defense system of the body / M. I. Retskiy, S. V. Shabunin, G. N. Bliznetsova et al. — Voronezh, 2010. — 70 p.
9. *Nezhdanov A. G.* Hormonal and antioxidant status of infertile cows / A. G. Nezhdanov, M. I. Retskiy, V. A. Safonov et al. // *Veterinariya (Veterinary science)*. — 2012. — No. 10. — P. 38—41.
10. *Vostroiilova G. A.* Study of the efficacy of aminoseleton under technological stress at pig-breeding complexes / G. A. Vostroiilova, N. A. Khokhlova, P. A. Parshin et al. // *Bulletin of Veterinary Pharmacology*. — 2018. — No. 2 (3). — P. 37—41.
11. *Prokulevich V. A.* Veterinary drugs based on interferon / V. A. Prokulevich, M. I. Potapovich // *Vestnik BGSU (Bulletin of BSU)*. — Series 2: Chemistry. Biology. Geography. — 2011. — No. 3. — P. 51—54.
12. *Cheskidova L. V.* Promising directions for the design of new generation drugs for animals using biotechnology (review) / L. V. Cheskidova, I. V. Bryukhova, N. A. Grigoryeva // *Bulletin of Veterinary Pharmacology*. — 2019. — No. 2 (7). — P. 29—38. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2019.2.29
13. *Yousefi N.* New product development in the pharmaceutical industry: evidence from a generic market / N. Yousefi, G. Mehralian, H. R. Rasekh et al. // *Iran J. Pharm. Res.* — 2017. — Vol. 16 (2). — P. 834—846.
14. *Shakhov A. G.* Effect of interferon-containing drugs on the pro- and antioxidant status in newborn piglets / A. G. Shakhov, L. Yu. Sashnina, G. A. Vostroiilova et al. // *Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya Vitebskaya ordena Znak pocheta gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsiny (Transactions of the educational establishment Vitebsk Order "Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine)*. — 2022. — Vol. 58. — No. 1. — P. 109—113. — DOI: 10.52368/2078-0109-58-1-109-113

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

I. A. Boldyrev — Postgraduate Student;

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

L. V. Cheskidova — Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate;

G. N. Bliznetsova — Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory.

The article was submitted 28.10.2024.

Научная статья

УДК 619:[578.245:612.1:618.19—002:618.63]:636.2

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2024.4.128

ИММУНО-БИОХИМИЧЕСКИЙ СТАТУС КРОВИ КЛИНИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ И БОЛЬНЫХ МАСТИТОМ ЛАКТИРУЮЩИХ КОРОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРФЕРОНА-ЛЯМБДА

Виталий Иванович Зимников*, Татьяна Игоревна Ермакова**

*,***Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии фармакологии и терапии, Воронеж, Россия*

**ivanovich.vitalick@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6371-7143>*

***<https://orcid.org/0000-0003-1069-1223>*

Аннотация. В статье представлены результаты проведенных исследований по изучению влияния рекомбинантного интерферона-лямбда на иммуно-биохимический статус крови клинически здоровых и больных маститом лактирующих коров. Применение рекомбинантного интерферона-лямбда клинически здоровым животным оказывает положительное воздействие на их организм, что выражается в повышении содержания альбуминов на 13,3 % ($P < 0,05$), витамина А — на 41,6 % ($P < 0,01$), витамина Е и витамина С — на 12,8 % ($P < 0,05$) и 19,9 % ($P < 0,05$) соответственно, при снижении концентрации циркулирующих иммунных комплексов на 35,1 % ($P < 0,05$) и малонового диальдегида на 18,7 % ($P < 0,05$). Трехкратное введение рекомбинантного интерферона-лямбда в дозе 10 мл больным субклиническим маститом коровам способствовало ослаблению воспалительной реакции, усилению защитных свойств организма за счет активизации клеточного и гуморального звена неспецифической резистентности, снижению уровня продуктов свободнорадикального окисления и эндогенной интоксикации на фоне активизации ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной защиты. Таким образом, рекомбинантный интерферон-лямбда оказывает положительное воздействие на иммунный и антиоксидантный статус здоровых и больных субклиническим маститом лактирующих коров.

Ключевые слова: мастит, рекомбинантный интерферон-лямбда, иммуно-биохимический статус, коровы

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день снижение рентабельности молочного скотоводства объясняется огромными экономическими потерями, возникающими у молочных ферм вследствие возникновения воспалительных процессов в молочной железе коров. Мастит влечет за собой ухудшение сортности сырого молока, понижение генетически заложенной продуктивности животных с последующей их несвоевременной выбраковкой, экспансивное увеличение оборота логистических и финансовых ресурсов для лечения и профилактики данной патологии [14].

Процент заболеваемости коров с воспалением вымени, характер течения и клиническое проявление воспаления зависят от нескольких ключевых факторов, наблюдаемых на производстве:

некорректная работа доильной аппаратуры, нарушение протокола технологии доения и обработки сосков вымени после доения, что приводит к нарушению функционального состояния молочной железы, снижению уровня общей и локальной неспецифической резистентности [1, 8, 14, 20, 21, 23].

В процессе развития, в том числе субклинической (скрытой) формы мастита, в организме животного наблюдаются типизированные реакции — апоптозные клеточные процессы, пассивная (венозная) гиперемия сосудов малого и среднего калибра, как следствие — экссудация с последующей эмиграцией клеток лейкоцитарного ряда за пределы сосудистого русла с ингибированием реакций фагоцитоза и пролиферативных явлений [1, 11, 18]. Отмечается неполноценная регенерация железистой ткани вымени ввиду нарушения кле-

точной детерминации и, как следствие, рост соединительнотканых структур в месте локализации поствоспалительных процессов. Однако при правильно выбранной и своевременно запущенной стратегии лечения, наблюдается рост регенерации бокаловидных клеток железистого слоя молочной железы [3, 10].

Важнейшей задачей ветеринарной фармакологии является разработка высокоэффективных, биологически безопасных средств и методов лечения воспаления молочной железы коров, не влияющих на товарность сырья, но способных повысить функциональную активность молочной железы коров после лечения [6, 10].

Одним из таких методов терапии мастита у сельскохозяйственных животных без использования антибактериальных лекарственных средств является применение препаратов, действующими веществами которых выступают интерфероны (ИФН) — тип молекулярных рекомбинантных белков, которые восполняют дефицит эндогенных регуляторных молекул и полностью воспроизводят их эффекты [4, 10].

Характерным процессом для мастита является переход сапрофитной флоры вымени в патогенную форму с последующим воздействием продуктов ее жизнедеятельности на окружающие клетки. Для купирования данного процесса необходимо поддерживать баланс реактивности иммунокомпетентных структур. Широко известны противовирусные, противоопухолевые и иммуномодулирующие свойства ИФН I типа, обеспечивающего каскадный и интенсивный иммунный ответ [9, 16].

Применение ИФН III типа в качестве «первой линии защиты» обуславливает повышение терапевтического эффекта, в сравнении с интерферонами I типа, что объясняется способностью активации узкоспециализированных генных цепочек относительно ограниченного пула клеток-мишеней и целенаправленного воздействия на иммуномодулирующие реакции [19].

Наиболее изученным представителем интерферонов III группы является интерферон-лямбда (ИФН-λ), представленный группой системных белков — интерлейкинов IL-29, IL-28A и IL28B [2, 3, 6].

Основные свойства ИФН III типа сходны с ИФН-α и ИФН-β: обеспечение ингибирования инфекционных агентов на поверхности эпителиальных барьеров [9, 12].

ИФН-λ регистрируется в различных структурных элементах организма, регулярно контакти-

рующих с инфекционными агентами различной природы, таких как эпителиальные клетки половых органов и желудочно-кишечного тракта, верхних и нижних отделов респираторной системы, а в большей степени его концентрация регистрируется в тканевых барьерах — гематоэнцефалическом, плацентарном, гепатоцитарном, что позволяет ИФН-λ активно участвовать в реакциях стимуляции врожденного и адаптационного звеньев иммунной системы, регулировать активацию нейтрофильного пула клеток и оказывать противовоспалительный эффект за счет ограничения доминирования экспрессирующих ИЛ-1b нейтрофилов [12, 14, 16].

Большой интерес вызывают работы по исследованию фармакокинетических и фармакотоксикологических свойств, а также механизмов действия интерферона-λ, что создает предпосылки для расширения клинических показаний его применения [3]. Для решения этих задач в рамках доклинических исследований проводят изучение фармакологической активности новых препаратов, оценку биохимического и физиологического действия на организм, установление взаимосвязи между концентрацией действующего вещества и его эффектами.

Целью исследований является изучение иммуно-биохимического статуса крови клинически здоровых и больных субклиническим маститом лактирующих коров при применении рекомбинантного интерферона-лямбда.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования, предусматривающие изучение влияния рекомбинантного интерферона-лямбда на иммуно-биохимический статус крови клинически здоровых и больных субклиническим маститом коров, были проведены на 20 животных, разделенных на 2 группы.

Животные 1 группы ($n = 10$) — клинически здоровые, второй группы ($n = 10$) — больные субклиническим маститом. Всем коровам внутримышечно вводили рекомбинантный интерферон-лямбда в дозе 10 мл трехкратно с 24-часовым интервалом. Перед введением препарата и через 5—7 дней после его последнего введения от 5 коров каждой группы были отобраны пробы крови для оценки иммуно-биохимического статуса их организма.

Диагноз на субклинический мастит ставили путем клинического обследования животных, в ходе которого учитывали общее состояние молочной железы (наличие отеков, повышение местной темпе-

ратуры, целостность кожного покрова и т. д.), а также пробного сдаивания на молочно-контрольную пластинку — визуально и с помощью экспресс-теста «Мастконтроль». Диагноз подтверждали подсчетом количества соматических клеток на счетчике соматических клеток фирмы De Laval.

Показатели гуморального и клеточного звена неспецифической резистентности организма животных определяли на сертифицированном оборудовании согласно утвержденным «Методическим рекомендациям по оценке и коррекции неспецифической резистентности животных» (Москва, 2007).

Оценку ферментативного и неферментативного звеньев системы антиоксидантной защиты, а также показатели свободнорадикального окисления липидов изучали на основании «Методического положения по изучению процессов свободнорадикаль-

ного окисления и системы антиоксидантной защиты организма» (Воронеж, 2010).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведенными исследованиями по изучению влияния рекомбинантного интерферона-лямбда на иммунологические и биохимические показатели крови клинически здоровых лактирующих коров установлено, что при применении рекомбинантного интерферона-лямбда клинически здоровым животным отмечены положительные изменения морфологических показателей крови. Так, у коров на седьмые сутки после последнего введения рекомбинантного интерферона-лямбда отмечено снижение эозинофилов в 1,8 раза ($P < 0,001$), палочкоядерных нейтрофилов — на 33,3 % ($P < 0,01$), при росте количества моноцитов на 44,0 % ($P < 0,01$) (табл. 1).

Таблица 1

Показатели иммуно-биохимического статуса клинически здоровых коров при применении рекомбинантного интерферона-лямбда

Показатели	До введения	После введения	Через 7 дней после введения
1	2	3	4
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	$8,5 \pm 0,4$	$8,1 \pm 0,5$	$7,3 \pm 0,5$
Эозинофилы, %	$4,8 \pm 0,1$	$3,0 \pm 0,2^{**}$	$2,6 \pm 0,2^{***}$
Нейтрофилы, %:			
палочкоядерные	$5,7 \pm 0,2$	$4,7 \pm 0,2^*$	$3,8 \pm 0,2^{**}$
сегментоядерные	$46,6 \pm 0,8$	$47,2 \pm 0,6$	$47,1 \pm 0,4$
Моноциты, %	$2,5 \pm 0,1$	$3,2 \pm 0,1^*$	$3,6 \pm 0,1^{**}$
Лимфоциты, %	$40,4 \pm 4,1$	$41,9 \pm 3,1$	$42,9 \pm 3,2$
Общий белок, г/л	$78,8 \pm 4,8$	$80,7 \pm 4,9$	$81,2 \pm 4,5$
Альбумины, %	$47,1 \pm 2,3$	$46,3 \pm 3,1$	$53,4 \pm 3,2^*$
α -глобулины, %	$13,1 \pm 0,9$	$13,8 \pm 0,7$	$14,5 \pm 0,8$
β -глобулины, %	$22,5 \pm 1,1$	$21,5 \pm 1,3$	$20,7 \pm 1,2$
γ -глобулины, %	$23,7 \pm 1,5$	$24,8 \pm 1,6$	$25,4 \pm 1,7$
Общие Ig, г/л	$26,1 \pm 1,8$	$25,6 \pm 1,6$	$26,8 \pm 1,4$
ЦИК, г/л	$0,37 \pm 0,01$	$0,28 \pm 0,01$	$0,24 \pm 0,01^*$
БАСК, %	$89,1 \pm 4,1$	$93,1 \pm 3,6$	$96,9 \pm 3,2$
ЛАСК, мкг/мл	$1,743 \pm 0,1$	$1,832 \pm 0,2$	$1,834 \pm 0,2$

Окончание табл. 1

1	2	3	4
ФАЛ, %	76,7 ± 3,6	77,5 ± 3,2	77,8 ± 2,7
ФИ, м. к./акт.фагоцит	6,4 ± 0,5	6,2 ± 0,3	6,7 ± 0,5
ФЧ, м. к./фагоцит	4,7 ± 0,2	4,5 ± 0,1	4,8 ± 0,3
ИЭИ, у. е.	37,7 ± 3,3	36,6 ± 2,6	32,4 ± 2,3
СМП, у. е.	1,12 ± 0,09	1,09 ± 0,07	0,926 ± 0,06
МДА, мкМ/л	3,37 ± 0,22	2,98 ± 0,21	2,74 ± 0,17*
Каталаза, мкМн ₂ О ₂ /мк мин	44,5 ± 3,2	44,5 ± 3,4	47,9 ± 3,6
ГПО, мкМ/л·мин	13,6 ± 0,6	13,9 ± 0,8	14,7 ± 0,5
Витамин А, мкМ/л	1,2 ± 0,01	1,2 ± 0,01*	1,7 ± 0,01**
Витамин Е, мкМ/л	18,8 ± 0,8	18,3 ± 1,2	21,2 ± 1,4*
Витамин С, мкМ/л	30,6 ± 1,8	32,1 ± 1,7	36,7 ± 1,6*

* $P < 0,05$

** $P < 0,01$

*** $P < 0,001$ — по отношению к показателям до применения рекомбинантного интерферона-лямбда

В эти же сроки наблюдали изменения некоторых иммуно-биохимических показателей: повышение содержания альбуминов на 13,4 % ($P < 0,05$), витамина А — на 41,7 % ($P < 0,01$), витамина Е и витамина С — на 12,8 % ($P < 0,05$) и 19,9 % ($P < 0,05$) соответственно, при снижении концентрации циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) на 35,1 % ($P < 0,05$) и малонового диальдегида (МДА) на 18,7 % ($P < 0,05$). Остальные показатели крови клинически здоровых коров находились на уровне

референтных значений и их изменения были статистически не достоверны. Следовательно, полученные данные говорят о положительном влиянии рекомбинантного интерферона-лямбда на организм клинически здоровых животных.

Результаты морфологических и иммуно-биохимических исследований крови до и после применения рекомбинантного интерферона-лямбда больным субклиническим маститом коровам представлены в таблице 2.

Таблица 2

Показатели иммуно-биохимического статуса больных субклиническим маститом коров при применении рекомбинантного интерферона-лямбда

Показатели	До введения	После введения	Через 7 дней после введения
1	2	3	4
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	8,9 ± 0,6	8,3 ± 0,5	7,4 ± 0,4*
Эозинофилы, %	6,5 ± 0,2	5,3 ± 0,2**	3,2 ± 0,2***
Нейтрофилы, %:			
палочкоядерные	6,0 ± 0,2	4,7 ± 0,2*	3,7 ± 0,1***
сегментоядерные	45,4 ± 0,8	43,8 ± 1,8	43,4 ± 2,1

Окончание табл. 2

1	2	3	4
Моноциты, %	1,9 ± 0,1	2,8 ± 0,1**	3,9 ± 0,11***
Лимфоциты, %	40,2 ± 3,1	43,4 ± 2,8	45,8 ± 4,3*
Общий белок, г/л	81,1 ± 4,5	80,2 ± 5,4	82,3 ± 5,3
Альбумины, %	41,3 ± 2,4	43,6 ± 2,7	44,2 ± 3,4
α-глобулины, %	11,3 ± 0,7	11,5 ± 0,8	10,7 ± 0,6
β-глобулины, %	20,5 ± 1,2	20,7 ± 1,3	20,4 ± 1,1
γ-глобулины, %	25,4 ± 1,2	26,1 ± 1,3	29,1 ± 1,5*
Общие Ig, г/л	24,3 ± 1,6	25,8 ± 1,8	30,2 ± 1,6*
ЦИК, г/л	0,43 ± 0,02	0,30 ± 0,01**	0,22 ± 0,01***
БАСК, %	54,6 ± 3,7	71,4 ± 4,2**	78,4 ± 3,5***
ЛАСК, мкг/мл	1,212 ± 0,1	1,743 ± 0,3**	2,342 ± 0,17***
ФАЛ, %	68,7 ± 3,2	78,4 ± 3,1*	80,8 ± 2,8*
ФИ, м. к./акт.фагоцит	5,3 ± 0,4	6,2 ± 0,3*	6,9 ± 0,2**
ФЧ, м. к./фагоцит	3,5 ± 0,05	4,2 ± 0,1*	4,9 ± 0,1**
ИЭИ, у. е.	45,6 ± 3,0	37,0 ± 2,4	35,5 ± 2,1**
СМП, у. е.	1,60 ± 0,1	1,15 ± 0,06*	0,84 ± 0,05***
МДА, мкМ/л	3,3 ± 0,2	2,5 ± 0,2*	1,6 ± 0,1***
Каталаза, ммоль H ₂ O ₂ /л·мин	26,6 ± 2,4	37,8 ± 3,2*	46,7 ± 3,9***
ГПО, ммоль GSH/л·мин	9,0 ± 0,4	10,8 ± 0,6*	13,5 ± 0,9*
Витамин А, мкМ/л	1,0 ± 0,05	1,3 ± 0,05*	1,5 ± 0,1**
Витамин Е, мкМ/л	15,5 ± 0,7	17,8 ± 1,1*	20,4 ± 1,3*
Витамин С, мкМ/л	27,5 ± 1,7	33,7 ± 2,1*	36,9 ± 1,9*

* $P < 0,05$ ** $P < 0,01$ *** $P < 0,001$ — по отношению к показателям до применения рекомбинантного интерферона-лямбда

Как следует из представленных данных, после трехкратного введения рекомбинантного интерферона-лямбда в дозе 10 мл с интервалом 24 часа в крови коров с субклиническим маститом установлено снижение количества эозинофилов на 18,5 % ($P < 0,01$), палочкоядерных нейтрофилов — на 21,7 % ($P < 0,05$), при повышении числа моно-

цитов на 47,4 % ($P < 0,01$), фагоцитарной активности лейкоцитов (ФАЛ) — на 14,1 % ($P < 0,05$), фагоцитарного индекса (ФИ) и фагоцитарного числа (ФЧ) — на 17,0 % ($P < 0,05$) и 20,0 % ($P < 0,05$) соответственно, что свидетельствует об активизации клеточного звена неспецифической резистентности организма животных и купировании воспали-

тельного процесса. Уменьшение уровня циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) на 30,2 % ($P < 0,01$), при статистически недостоверном повышении концентрации общих иммуноглобулинов (Ig) и γ -глобулинов, а также бактерицидной (БАСК) и лизоцимной активности сыворотки крови (ЛАСК) на 30,8 % ($P < 0,01$) и 43,8 % ($P < 0,01$) соответственно, указывают на стимулирующее влияние препарата на гуморальные факторы защиты.

После применения рекомбинантного интерферона-лямбда отмечены изменения оксидантно-антиоксидантного статуса животных, характеризующиеся снижением содержания малонового диальдегида (МДА) на 24,1 % ($P < 0,05$), средних молекулярных пептидов (СМП) — на 28,1 % ($P < 0,05$), при повышении концентрации витамина А — на 30,0 % ($P < 0,05$), витамина Е — на 14,8 % ($P < 0,05$), витамина С — на 22,5 % ($P < 0,05$), активности каталазы — на 42,1 % ($P < 0,01$) и глутатионпероксидазы (ГПО) на 20,0 % ($P < 0,05$), свидетельствующие о снижении процессов перекисного окисления липидов, эндогенной интоксикации и активизации ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной защиты.

Наиболее выраженные изменения были отмечены через 7 дней после последнего введения рекомбинантного интерферона-лямбда. Так, в крови животных отмечено снижение содержания лейкоцитов на 16,9 % ($P < 0,05$), эозинофилов — в 2,0 раза ($P < 0,001$), палочкоядерных нейтрофилов — в 1,6 раза ($P < 0,001$), циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) — в 2,0 раза ($P < 0,001$), при повышении уровня лимфоцитов на 14,0 % ($P < 0,05$), моноцитов — в 2,1 раза ($P < 0,001$), фагоцитарной активности лейкоцитов (ФАЛ) — на 17,6 % ($P < 0,05$), фагоцитарного индекса (ФИ) — на 30,2 % ($P < 0,01$), фагоцитарного числа (ФЧ) — на 40,0 % ($P < 0,01$), γ -глобулинов — на 14,6 % ($P < 0,05$), общих иммуноглобулинов (Ig) — на 24,3 % ($P < 0,05$), бактерицидной (БАСК) и лизоцимной (ЛАСК) активности сыворотки крови — соответственно на 43,6 % ($P < 0,001$) и в 1,9 раза ($P < 0,001$), что свидетельствует об активизации клеточного и гуморального звена естественной неспецифической резистентности организма.

Вместе с этим на седьмые сутки после применения рекомбинантного интерферона-лямбда отмечено уменьшение содержания малонового диальдегида (МДА) в 2,1 раза ($P < 0,001$), средних молекулярных пептидов (СМП) — в 1,9 раза ($P < 0,001$), индекса эндогенной интоксикации (ИЭИ) — в 1,5 раза ($P < 0,001$), при повышении

концентрации витамина А в 1,5 раза ($P < 0,01$), витамина Е — на 31,6 % ($P < 0,05$) и витамина С — на 34,2 % ($P < 0,05$), активности каталазы — в 1,8 раза ($P < 0,001$) и глутатионпероксидазы — в 1,5 раза ($P < 0,05$), что свидетельствует о снижении процессов свободнорадикального окисления, эндогенной интоксикации и активизации системы антиоксидантной защиты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение рекомбинантного интерферона-лямбда клинически здоровым лактирующим коровам оказывает положительное влияние на организм животных, что выражается в повышении концентрации в крови альбуминов, витамина А, витамина Е и витамина С, снижению содержания эозинофилов, палочкоядерных нейтрофилов, циркулирующих иммунных комплексов и малонового диальдегида, что свидетельствует о повышении эффективности работы системы антиоксидантной защиты. Трехкратное введение рекомбинантного интерферона-лямбда в дозе 10 мл больным субклиническим маститом коровам способствовало купированию воспалительной реакции в молочной железе, усилению защитных свойств организма за счет активизации клеточного и гуморального звеньев неспецифической резистентности, снижению уровня продуктов свободнорадикального окисления, эндогенной интоксикации на фоне активизации ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной системы.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Авдеенко В. С. Новый подход к патогенезу и лечению заболеваний молочных желез у животных // Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизведения животных: матер. Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 85-лет. со дня рожд. проф. Г. А. Черемисинова и 50-лет. создан. Воронежской школы вет. акушер. 18—19 октября 2012 г. г. Воронеж / В. С. Авдеенко. г. Воронеж: изд-во «Истоки», 2012. С. 28—31.
2. Григорян С. С. Интерфероны лямбда (3-й тип интерферонов) и вирусные инфекции / С. С. Григорян // Сборник научных статей «Интерферон-2011». 2012. С. 63—73.
3. Зимников В. И. Результаты изучения безвредности (переносимости) препарата «Рекомбинантный интерферон-лямбда» / В. И. Зимников, О. Б. Павленко, Г. Г. Чусова, Л. В. Ческидова // Ветеринарный фармакологический вестник. 2022. № 2 (19). С. 8—20. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.2.8
4. Зимников В. И. Динамика показателей системы ПОЛ-АОЗ при применении рекомбинантных интерфе-

- ронов для терапии субклинического мастита у коров / В. И. Зимников, Л. В. Ческидова, Т. Г. Ермолова // Ветеринарный фармакологический вестник. 2022. № 3 (20). С. 82—91. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.3.82
5. *Зимников В. И.* Показатели секрета молочной железы больных субклиническим маститом коров при применении интерферона-λ / В. И. Зимников, О. А. Манжурина, Е. В. Тюрина // Международный вестник ветеринарии. 2022. № 4. С. 401—406. DOI 10.52419/issn2072-2419.2022.4.401
6. *Кихтенко Н. А.* Интерфероны лямбда — возможности терапевтического применения / Н. А. Кихтенко, Л. А. Олейник, В. К. Макаров, Е. П. Нагорская, П. Г. Мадонов // Сибирский научный медицинский журнал. 2020. № 40 (2). С. 15—23. <https://doi.org/10.15372/SSMJ20200202>
7. *Климов Н. Т.* Некоторые показатели секрета вымени больных маститом коров при применении бычьих рекомбинантных интерферонов α и γ / Н. Т. Климов, В. И. Зимников, А. Ю. Алиев, В. А. Прокулевич // Горное сельское хозяйство. 2019. № 3. С. 138—140.
8. *Климов Н. Т.* Технологические параметры машинного доения и заболеваемость коров маститом / Н. Т. Климов, В. И. Михалев, А. Г. Нежданов, С. С. Першин // Ветеринария. 2013. № 8. С. 37—39.
9. *Мадонов П. Г.* Интерферон лямбда — новый представитель фармакологически активных интерферонов / П. Г. Мадонов, Н. А. Кихтенко, Л. А. Олейник, В. В. Удут // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2020. Т. 83. № 6. С. 30—37. <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2020-83-6-30-37>
10. *Слободяник В. И.* Иммунологические аспекты борьбы с маститом коров: Монография / В. И. Слободяник, Н. Т. Климов, Л. В. Ческидова, Е. В. Зверев. Воронеж: «Истоки», 2020. 221 с.
11. *Bezman D.* Influence of intramammary infection of a single gland in dairy cows on the cow's milk / D. Bezman, L. Lemberskiy-Kuzin, G. Katz, U. Merin, G. Leitner // J Dairy Res. 2015. Aug; 82 (3). p. 304—311.
12. *Gomes F.* Control of bovine mastitis: old and recent therapeutic approaches / F. Gomes, M. Henriques // Curr Microbiol. 2016. № 72 (4). p. 377—82. <https://doi.org/10.1007/s00284-015-0958-8>
13. *Hafez S. M.* Development of new strategy for non-antibiotic therapy: bovine lactoferrin has a potent antimicrobial and immunomodulator effects / S. M. Hafez, A. B. Ismael, M. B. Mahmoud, A. A. Elaraby // Adv Infect Dis. 2013. V. 3. p. 185—192.
14. *Hughes K.* The mammary microenvironment in mastitis in humans, dairy ruminants, rabbits and rodents: a one health focus / K. Hughes, C. J. Watson // J Mammary Gland Biol Neoplasia. 2018. Jun; 23 (1—2). p. 27—41.
15. *Lazear H. M.* Shared and distinct functions of type I and type III interferons / H. M. Lazear, J. W. Schoggins, M. S. Diamond // Immunity. 2019. V. 50 (4). p. 907—923. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.025>
16. *Levy D. E.* Induction of type I and III interferon in response to viral infection / D. E. Levy, I. J. Marie, J. E. Durbin // Curr. Opin. Virol. 2011. V. 1. p. 476—486. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2011.11.001>
17. *Mordstein M.* Lambda Interferon renders epithelial cells of respiratory and gastrointestinal tracts resistant to viral infections / M. Mordstein, E. Neugebauer, V. Ditt, B. Jessen, T. Rieger, V. Falcone, F. Sorgeloos, S. Ehl, D. Mayer, G. Kochs, M. Schwemmler, S. Günther, C. Drosten, T. Michiels, P. Staeheli // J. Virol. 2010. V. 11. p. 5670—5677. <https://doi.org/10.1128/JVI.00272-10>
18. *Patel K.* Relationships among bedding materials, bedding bacteria counts, udder hygiene, milk quality, and udder health in US dairy herds / K. Patel, S. M. Godden, E. Royster, B. A. Crooker, J. Timmerman, L. Fox // J Dairy Sci. 2019. Nov; 102 (11). p. 10213—10234.
19. *Rivera A.* Interferon lambda's new role as regulator of neutrophil function / A. Rivera // J. Interferon Cytokine Res. 2019. V. 39 (10). p. 609—617. <https://doi.org/10.1089/jir.2019.0036>
20. *Schukken Y. H.* Host-response patterns of intramammary infections in dairy cows / Y. H. Schukken, J. Günther, J. Fitzpatrick, M. C. Fontaine, L. Goetze, O. Holst, J. Leigh, W. Petzl, H. — J. Schuberth, A. Sipka, D. G. E. Smith, R. Quesnell, J. Watts, R. Yancey, H. Zerbe, A. Gurjar, R. N. Zadoks, H. — M. Seyfert // Vet Immunol Immunopathol. 2011. Dec 15; 144 (3—4). p. 270—289.
21. *Shabunin S. V.* Significance of physiological and technological factors in development of mastitis in lactating cows / S. V. Shabunin, N. T. Klimov, A. G. Nezhdanov // Reproduction in Domestic Animals. 2017. T. 52. № S3. p. 133.
22. *Shaldzhyan A.* Clean and folded: Production of active, high quality recombinant human interferon-λ1 / A. Shaldzhyan, Ya. Zabrodskaya, N. Yolshin, T. Kudling, A. Lozhkov, M. Plotnikova, E. Ramsay, A. Taraskin, P. Nekrasov, M. Grudin, A. Vasin // Process Biochemistry. 2021. V. 111. p. 32—39.
23. *Souza F. N.* Immune response in nonspecific mastitis: what can it tell us? / F. N. Souza, M. G. Blagitz, C. F. Batista, P. V. Takano, R. G. Gargano, S. A. Diniz, M. X. Silva, J. A. Ferronato, K. R. Santos, M. B. Heinemann, S. De Vlieghe, A. M. M. P. Della Libera // J Dairy Sci. 2020. Jun; 103 (6). p. 5376—5386.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

В. И. Зимников — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник;

Т. И. Ермакова — кандидат биологических наук, доцент.

Статья поступила в редакцию 17.10.2024.

Original article

UDC 619:[578.245:612.1:618.19—002:618.63]:636.2

IMMUNOBIOCHEMICAL BLOOD STATUS IN CLINICALLY HEALTHY COWS AND LACTATING COWS WITH MASTITIS USING RECOMBINANT INTERFERON LAMBDA

Vitaliy Ivanovich Zimnikov*, Tatyana Igorevna Ermakova**

* **All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia

*ivanovich.vitalick@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6371-7143>

**<https://orcid.org/0000-0003-1069-1223>

Abstract. The article presents the results of the studies on the effect of recombinant interferon lambda on the immunobiochemical blood status of clinically healthy lactating cows and those with mastitis. The use of recombinant interferon lambda in clinically healthy animals has a positive effect on their body, which is expressed in an increase in the content of albumin by 13.3 % ($P < 0.05$), vitamin A — by 41.6 % ($P < 0.01$), vitamin E and vitamin C — by 12.8 % ($P < 0.05$) and 19.9 % ($P < 0.05$), respectively, with a decrease in the concentration of circulating immune complexes by 35.1 % ($P < 0.05$) and malondialdehyde — by 18.7 % ($P < 0.05$). Three-fold administration of recombinant interferon lambda at a dose of 10 ml to cows with subclinical mastitis contributed to the weakening of the inflammatory reaction, strengthening of the body's protective properties due to the activation of the cellular and humoral link of non-specific resistance, a decrease in the level of free radical oxidation products and endogenous intoxication against the background of activation of the enzymatic and non-enzymatic links of antioxidant protection. Thus, recombinant interferon lambda has a positive effect on the immune and antioxidant status of healthy lactating cows and those with subclinical mastitis.

Keywords: mastitis, recombinant interferon lambda, immunobiochemical status, cows

INTRODUCTION

Today, the decline in the profitability of dairy cattle breeding is explained by the enormous economic losses that dairy farms incur due to the occurrence of inflammatory processes in the mammary gland of cows. Mastitis entails a deterioration in the quality of raw milk, a decrease in the genetically determined productivity of animals with subsequent untimely culling, an expansive increase in the turnover of logistical and financial resources for the treatment and prevention of this pathology [14].

The percentage of cows with udder inflammation, the nature of the course and clinical manifestation of inflammation depend on several key factors observed in production: incorrect operation of milking equipment, violation of the milking technology protocol and processing of udder teats after milking, which leads to a violation of the functional state of the mammary gland, a decrease in the level of general and local non-specific resistance [1, 8, 14, 20, 21, 23].

During the development process, including the subclinical (latent) form of mastitis, typical reactions

are observed in the animal's body — apoptotic cellular processes, passive (venous) hyperemia of small and medium-sized vessels, as a consequence — exudation followed by emigration of leukocyte cells outside the vascular bed with inhibition of phagocytosis reactions and proliferative phenomena [1, 11, 18]. Incomplete regeneration of the glandular tissue of the udder is noted due to impaired cellular determination and, as a consequence, the growth of connective tissue structures at the site of localization of post-inflammatory processes.

However, with a correctly selected and timely launched treatment strategy, an increase in the regeneration of goblet cells of the glandular layer of the mammary gland is observed [3, 10].

The most important task of veterinary pharmacology is the development of highly effective, biologically safe means and methods for the treatment of the mammary gland inflammation of cows that do not affect the marketability of raw material, but are capable of increasing the functional activity of the mammary gland of cows after treatment [6, 10].

One of such methods of treating mastitis in farm animals without the use of antibacterial drugs is the use of drugs the active substances of which are interferons (IFN) — a type of molecular recombinant proteins that compensate for the deficiency of endogenous regulatory molecules and completely reproduce their effects [4, 10]. A characteristic process for mastitis is the transition of the saprophytic flora of the udder into a pathogenic form with the subsequent effect of its waste products on the surrounding cells. To stop this process, it is necessary to maintain a balance of reactivity of immunocompetent structures. The antiviral, antitumor and immunomodulatory properties of IFN type I, which provides a cascade and intense immune response, are widely known [9, 16].

The use of IFN type III as a “first line of defense” results in an increased therapeutic effect, compared to IFN type I, which is explained by the ability to activate highly specialized gene chains of a relatively limited pool of target cells and to specifically affect immunomodulatory responses [19].

The most studied representative of group III interferons is interferon lambda (IFN- λ), represented by a group of systemic proteins — interleukins IL-29, IL-28A and IL28B [2, 3, 6].

The main properties of IFN type III are similar to IFN- α and IFN- β : providing inhibition of infectious agents on the surface of epithelial barriers [9, 12].

IFN- λ is recorded in various structural elements of the body that regularly come into contact with infectious agents of various nature, such as epithelial cells of the genital organs and gastrointestinal tract, upper and lower respiratory tract, and to a greater extent its concentration is recorded in tissue barriers — blood-brain, placental, hepatocyte, which allows IFN- λ to actively participate in the reactions of stimulation of the innate and adaptive links of the immune system, regulate the activation of the neutrophil pool of cells and have an anti-inflammatory effect by limiting the dominance of neutrophils expressing IL-1b [12, 14, 16].

The studies on the pharmacokinetic and pharmacotoxicological properties, as well as the mechanisms of action of interferon- λ , which creates the prerequisites for expanding the clinical indications for its use, are of great interest [3]. To solve these problems, pre-clinical studies are conducted to study the pharmacological activity of new drugs, assess the biochemical and physiological effects on the body, and detect the relationship between the concentration of the active substance and its effects.

The objective of the research is to study the immunobiochemical blood status of clinically healthy cows

and lactating cows with subclinical mastitis using recombinant interferon lambda.

MATERIAL AND METHODS

The studies, which included studying the effect of recombinant interferon lambda on the immunobiochemical blood status of clinically healthy cows and cows with subclinical mastitis, were conducted on 20 animals divided into 2 groups. The animals of group 1 ($n = 10$) were clinically healthy, and those of group 2 ($n = 10$) were sick with subclinical mastitis. All cows were intramuscularly injected with recombinant interferon lambda at a dose of 10 ml three times with a 24-hour interval. Before the administration of the drug and 5—7 days after its last administration, blood samples were taken from 5 cows of each group to assess the immunobiochemical status of their body.

The diagnosis of subclinical mastitis was made by clinical examination of animals, during which the general condition of the mammary gland was taken into account (presence of edema, increase in local temperature, integrity of the skin, etc.), as well as milking dry on a milk control plate — visually and using the Mastcontrol express test. The diagnosis was confirmed by counting the number of somatic cells on a De Laval somatic cell counter.

The indicators of the humoral and cellular links of non-specific resistance of the animal organism were determined on certified equipment in accordance with the approved Methodological Recommendations for the Assessment and Correction of Non-Specific Resistance of Animals (Moscow, 2007).

The assessment of the enzymatic and non-enzymatic links of the antioxidant defense system, as well as the indicators of free radical oxidation of lipids, were studied based on the Methodological Provisions for the Study of Free Radical Oxidation Processes and the Antioxidant Defense System of the Body (Voronezh, 2010).

STUDY RESULTS

The conducted studies on the effect of recombinant interferon lambda on the immunological and blood biochemical indicators of clinically healthy lactating cows have established that when using recombinant interferon lambda in clinically healthy animals, positive changes in the blood morphological indicators were noted. Thus, in the cows on the seventh day after the last administration of recombinant interferon lambda, there was noted a decrease in eosinophils by 1.8 times ($P < 0.001$), stab neutrophils — by 33.3 % ($P < 0.01$), with an increase in the number of monocytes by 44.0 % ($P < 0.01$) (Table 1).

Table 1

Indicators of the immunobiochemical status of clinically healthy cows when using recombinant interferon lambda

Indicators	Before administration	After administration	7 d after administration
Leukocytes, 10 ⁹ /L	8.5 ± 0.4	8.1 ± 0.5	7.3 ± 0.5
Eosinophils, %	4.8 ± 0.1	3.0 ± 0.2**	2.6 ± 0.2***
Neutrophils, %:			
stab	5.7 ± 0.2	4.7 ± 0.2*	3.8 ± 0.2**
segmented	46.6 ± 0.8	47.2 ± 0.6	47.1 ± 0.4
Monocytes, %	2.5 ± 0.1	3.2 ± 0.1*	3.6 ± 0.1**
Lymphocytes, %	40.4 ± 4.1	41.9 ± 3.1	42.9 ± 3.2
Total protein, g/L	78.8 ± 4.8	80.7 ± 4.9	81.2 ± 4.5
Albumins, %	47.1 ± 2.3	46.3 ± 3.1	53.4 ± 3.2*
α-globulins, %	13.1 ± 0.9	13.8 ± 0.7	14.5 ± 0.8
β-globulins, %	22.5 ± 1.1	21.5 ± 1.3	20.7 ± 1.2
γ-globulins, %	23.7 ± 1.5	24.8 ± 1.6	25.4 ± 1.7
Total Ig, g/L	26.1 ± 1.8	25.6 ± 1.6	26.8 ± 1.4
CIC, g/L	0.37 ± 0.01	0.28 ± 0.01	0.24 ± 0.01*
SBA, %	89.1 ± 4.1	93.1 ± 3.6	96.9 ± 3.2
SLA, µg/ml	1.743 ± 0.1	1.832 ± 0.2	1.834 ± 0.2
LPA, %	76.7 ± 3.6	77.5 ± 3.2	77.8 ± 2.7
PhI, m. c./act. phagocyte	6.4 ± 0.5	6.2 ± 0.3	6.7 ± 0.5
PhN, m. c./phagocyte	4.7 ± 0.2	4.5 ± 0.1	4.8 ± 0.3
IEI, c. u.	37.7 ± 3.3	36.6 ± 2.6	32.4 ± 2.3
MMP, c. u.	1.12 ± 0.09	1.09 ± 0.07	0.926 ± 0.06
MDA, µM/L	3.37 ± 0.22	2.98 ± 0.21	2.74 ± 0.17*
Catalase, µM H ₂ O ₂ /mc min	44.5 ± 3.2	44.5 ± 3.4	47.9 ± 3.6
GPO, µM/L·min	13.6 ± 0.6	139 ± 0.8	14.7 ± 0.5
Vitamin A, µM/L	1.2 ± 0.01	1.2 ± 0.01*	1.7 ± 0.01**
Vitamin E, µM/L	18.8 ± 0.8	18.3 ± 1.2	21.2 ± 1.4*
Vitamin C, µM/L	30.6 ± 1.8	32.1 ± 1.7	36.7 ± 1.6*

* $P < 0.05$

** $P < 0.01$

*** $P < 0.001$ — relative to the indicators before the use of recombinant interferon lambda

During the same period, changes in some immunobiochemical indicators were observed: an increase in albumin content by 13.4 % ($P < 0.05$), vitamin A — by 41.7 % ($P < 0.01$), vitamin E and vitamin C — by 12.8 % ($P < 0.05$) and 19.9 % ($P < 0.05$), respectively, with a decrease in the concentration of circulating immune complexes (CIC) by 35.1 % ($P < 0.05$) and malondialdehyde (MDA) — by 18.7 % ($P < 0.05$). The remaining blood indicators of clinically healthy cows

were at the level of reference values and their changes were statistically insignificant.

Therefore, the obtained data indicate a positive effect of recombinant interferon lambda on the body of clinically healthy animals.

The results of morphological and immunobiochemical blood studies before and after the use of recombinant interferon lambda in cows with subclinical mastitis are presented in Table 2.

Table 2

Indicators of the immunobiochemical status of cows with subclinical mastitis when using recombinant interferon lambda

Indicators	Before administration	After administration	7 d after administration
1	2	3	4
Leukocytes, 10 ⁹ /L	8.9 ± 0.6	8.3 ± 0.5	7.4 ± 0.4*
Eosinophils, %	6.5 ± 0.2	5.3 ± 0.2**	3.2 ± 0.2***
Neutrophils, %:			
stab	6.0 ± 0.2	4.7 ± 0.2*	3.7 ± 0.1***
segmented	45.4 ± 0.8	43.8 ± 1.8	43.4 ± 2.1
Monocytes, %	1.9 ± 0.1	2.8 ± 0.1**	3.9 ± 0.11***
Lymphocytes, %	40.2 ± 3.1	43.4 ± 2.8	45.8 ± 4.3*
Total protein, g/L	81.1 ± 4.5	80.2 ± 5.4	82.3 ± 5.3
Albumins, %	41.3 ± 2.4	43.6 ± 2.7	44.2 ± 3.4
α-globulins, %	11.3 ± 0.7	11.5 ± 0.8	10.7 ± 0.6
β-globulins, %	20.5 ± 1.2	20.7 ± 1.3	20.4 ± 1.1
γ-globulins, %	25.4 ± 1.2	26.1 ± 1.3	29.1 ± 1.5*
Total Ig, g/L	24.3 ± 1.6	25.8 ± 1.8	30.2 ± 1.6*
CIC, g/L	0.43 ± 0.02	0.30 ± 0.01**	0.22 ± 0.01***
SBA, %	54.6 ± 3.7	71.4 ± 4.2**	78.4 ± 3.5***
SLA, μg/ml	1.212 ± 0.1	1.743 ± 0.3**	2.342 ± 0.17***
LPA, %	68.7 ± 3.2	78.4 ± 3.1*	80.8 ± 2.8*
PhI, m. c./act. phagocyte	5.3 ± 0.4	6.2 ± 0.3*	6.9 ± 0.2**
PhN, m. c./phagocyte	3.5 ± 0.05	4.2 ± 0.1*	4.9 ± 0.1**
IEI, c. u.	45.6 ± 3.0	37.0 ± 2.4	35.5 ± 2.1**
MMP, c. u.	1.60 ± 0.1	1.15 ± 0.06*	0.84 ± 0.05***
MDA, μM/L	3.3 ± 0.2	2.5 ± 0.2*	1.6 ± 0.1***

Table 2 (the end)

1	2	3	4
Catalase, $\mu\text{M H}_2\text{O}_2/\text{mc min}$	26.6 ± 2.4	$37.8 \pm 3.2^*$	$46.7 \pm 3.9^{***}$
GPO, $\mu\text{M/L}\cdot\text{min}$	9.0 ± 0.4	$10.8 \pm 0.6^*$	$13.5 \pm 0.9^*$
Vitamin A, $\mu\text{M/L}$	1.0 ± 0.05	$1.3 \pm 0.05^*$	$1.5 \pm 0.1^{**}$
Vitamin E, $\mu\text{M/L}$	15.5 ± 0.7	$17.8 \pm 1.1^*$	$20.4 \pm 1.3^*$
Vitamin C, $\mu\text{M/L}$	27.5 ± 1.7	$33.7 \pm 2.1^*$	$36.9 \pm 1.9^*$

* $P < 0.05$

** $P < 0.01$

*** $P < 0.001$ — relative to the indicators before the use of recombinant interferon lambda

As follows from the presented data, after three-fold administration of recombinant interferon lambda at a dose of 10 ml with an interval of 24 hours, in the blood of cows with subclinical mastitis, there was a decrease in the number of eosinophils by 18.5 % ($P < 0.01$), stab neutrophils — by 21.7 % ($P < 0.05$), with an increase in the number of monocytes by 47.4 % ($P < 0.01$), leukocyte phagocytic activity (LPA) — by 14.1 % ($P < 0.05$), phagocytic index (PhI) and phagocytic number (PhN) — by 17.0 % ($P < 0.05$) and 20.0 % ($P < 0.05$), respectively, which indicated the activation of the cellular link of nonspecific resistance of the animal body and the relief of the inflammatory process. A decrease in the level of circulating immune complexes (CIC) by 30.2 % ($P < 0.01$), with a statistically insignificant increase in the concentration of total immunoglobulins (Ig) and γ -globulins, as well as serum bactericidal (SBA) and lysozyme activity (SLA) — by 30.8 % ($P < 0.01$) and 43.8 % ($P < 0.01$), respectively, indicate a stimulating effect of the drug on humoral defense factors.

After the use of recombinant interferon lambda, changes in the oxidant-antioxidant status of animals were noted, characterized by a decrease in the content of malondialdehyde (MDA) by 24.1 % ($P < 0.05$), medium molecular peptides (MMP) — by 28.1 % ($P < 0.05$), with an increase in the concentration of vitamin A — by 30.0 % ($P < 0.05$), vitamin E — by 14.8 % ($P < 0.05$), vitamin C — by 22.5 % ($P < 0.05$), catalase activity — by 42.1 % ($P < 0.01$) and glutathione peroxidase (GPO) — by 20.0 % ($P < 0.05$), indicating a decrease in lipid peroxidation processes, endogenous intoxication and activation of enzymatic and non-enzymatic links of antioxidant protection.

The most pronounced changes were noted 7 days after the last administration of recombinant interfer-

on lambda. Thus, in the blood of animals there was a decrease in the content of leukocytes by 16.9 % ($P < 0.05$), eosinophils — by 2.0 times ($P < 0.001$), stab neutrophils — by 1.6 times ($P < 0.001$), circulating immune complexes (CIC) — by 2.0 times ($P < 0.001$), with an increase in the level of lymphocytes by 14.0 % ($P < 0.05$), monocytes — by 2.1 times ($P < 0.001$), leukocyte phagocytic activity (LPA) — by 17.6 % ($P < 0.05$), phagocytic index (PhI) — by 30.2 % ($P < 0.01$), phagocytic number (PhN) — by 40.0 % ($P < 0.01$), γ -globulins — by 14.6 % ($P < 0.05$), total immunoglobulins (Ig) — by 24.3 % ($P < 0.05$), serum bactericidal (SBA) and lysozyme (SLA) activity — by 43.6 % ($P < 0.001$) and 1.9 times ($P < 0.001$), respectively, which indicated the activation of the cellular and humoral links of the body's natural non-specific resistance.

At the same time, on the seventh day after the use of recombinant interferon lambda, there was noted a decrease in the content of malondialdehyde (MDA) by 2.1 times ($P < 0.001$), medium molecular peptides (MMP) — by 1.9 times ($P < 0.001$), index of endogenous intoxication (IEI) — by 1.5 times ($P < 0.001$), with an increase in the concentration of vitamin A by 1.5 times ($P < 0.01$), vitamin E — by 31.6 % ($P < 0.05$) and vitamin C — by 34.2 % ($P < 0.05$), catalase activity — by 1.8 times ($P < 0.001$) and glutathione peroxidase — by 1.5 times ($P < 0.05$), which indicated a decrease in free radical oxidation processes, endogenous intoxication and activation of the antioxidant defense system.

CONCLUSION

The use of recombinant interferon lambda in clinically healthy lactating cows has a positive effect on the animal organism, which is expressed in an increase

in the concentration of albumin, vitamin A, vitamin E and vitamin C in the blood, a decrease in the content of eosinophils, stab neutrophils, circulating immune complexes and malondialdehyde, which indicates an increase in the efficacy of the antioxidant defense system. Three-fold administration of recombinant interferon-lambda at a dose of 10 ml to cows with subclinical mastitis contributed to the relief of the inflammatory reaction in the mammary gland, strengthening the protective properties of the organism due to the activation of cellular and humoral links of non-specific resistance, a decrease in the level of free radical oxidation products, endogenous intoxication against the background of activation of the enzymatic and non-enzymatic links of the antioxidant system.

REFERENCES

1. *Avdeenko V. S.* New approach to pathogenesis and treatment of mammary gland diseases in animals // Current problems of veterinary obstetrics and biotechnology of animal reproduction: Mat. of Int. scientific and practical. conf., dedicated to the 85th anniversary since the birth of prof. G. A. Cheremisinov and the 50th anniversary since the establishment of Voronezh School of Veterinary Obstet. October 18—19, 2012. Voronezh / V. S. Avdeenko. Voronezh: Istoki Publishing House, 2012. P. 28—31.
2. *Grigoryan S. S.* Lambda interferons (interferons type 3) and viral infections / S. S. Grigoryan // Collection of original articles Interferon-2011. 2012. P. 63—73.
3. *Zimnikov V. I.* Study results of safety (tolerance) of the drug “Recombinant Interferon-Lambda” / V. I. Zimnikov, O. B. Pavlenko, G. G. Chusova, L. V. Cheskidova // Bulletin of Veterinary Pharmacology. 2022. No. 2 (19). P. 8—20. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.2.8
4. *Zimnikov V. I.* Dynamics of the LPO-AOD system indicators when using recombinant interferons for the therapy of subclinical mastitis in cows / V. I. Zimnikov, L. V. Cheskidova, T. G. Ermolova // Bulletin of Veterinary Pharmacology. 2022. No. 3 (20). P. 82—91. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.3.82
5. *Zimnikov V. I.* Indicators of mammary gland secretion of cows with subclinical mastitis when using interferon- λ / V. I. Zimnikov, O. A. Manzhurina, E. V. Tyurina // Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii (International Bulletin of Veterinary Medicine). 2022. No. 4. P. 401—406. DOI 10.52419/issn2072-2419.2022.4.401
6. *Kikhtenko N. A.* Lambda interferons — possibilities of therapeutic use / N. A. Kikhtenko, L. A. Oleynik, V. K. Makarov, E. P. Nagorskaya, P. G. Madonov // Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal (Siberian Scientific Medical Journal). 2020. No. 40 (2). P. 15—23. <https://doi.org/10.15372/SSMJ20200202>
7. *Klimov N. T.* Some indicators of the udder secretion of cows with mastitis when using bovine recombinant interferons- α and - γ / N. T. Klimov, V. I. Zimnikov, A. Yu. Aliev, V. A. Prokulevich // Gornoe selskoe khozyaystvo (Mountain agriculture). 2019. No. 3. P. 138—140.
8. *Klimov N. T.* Technological indicators of machine milking and the incidence of mastitis in cows / N. T. Klimov, V. I. Mikhalev, A. G. Nezhdanov, S. S. Pershin // Veterinariya (Veterinary medicine). 2013. No. 8. P. 37—39.
9. *Madonov P. G.* Interferon lambda — a new representative of pharmacologically active interferons / P. G. Madonov, N. A. Kikhtenko, L. A. Oleynik, V. V. Udut // Eksperimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya (Experimental and clinical pharmacology). 2020. Vol. 83. No. 6. P. 30—37. <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2020-83-6-30-37>
10. *Slobodyanik V. I.* Immunological aspects of the fight against bovine mastitis: Monograph / V. I. Slobodyanik, N. T. Klimov, L. V. Cheskidova, E. V. Zverev. Voronezh: “Istoki”, 2020. 221 p.
11. *Bezman D.* Influence of intramammary infection of a single gland in dairy cows on the cow’s milk / D. Bezman, L. Lemberskiy-Kuzin, G. Katz, U. Merin, G. Leitner // J Dairy Res. 2015. Aug; 82 (3). p. 304—311.
12. *Gomes F.* Control of bovine mastitis: old and recent therapeutic approaches / F. Gomes, M. Henriques // Curr Microbiol. 2016. No. 72 (4). p. 377—82. <https://doi.org/10.1007/s00284-015-0958-8>
13. *Hafez S. M.* Development of new strategy for non-antibiotic therapy: bovine lactoferrin has a potent antimicrobial and immunomodulator effects / S. M. Hafez, A. B. Ismael, M. B. Mahmoud, A. A. Elaraby // Adv Infect Dis. 2013. V. 3. p. 185—192.
14. *Hughes K.* The mammary microenvironment in mastitis in humans, dairy ruminants, rabbits and rodents: a one health focus / K. Hughes, C. J. Watson // J Mammary Gland Biol Neoplasia. 2018. Jun; 23 (1—2). p. 27—41.
15. *Lazear H. M.* Shared and distinct functions of type I and type III interferons / H. M. Lazear, J. W. Schoggins, M. S. Diamond // Immunity. 2019. V. 50 (4). p. 907—923. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.025>
16. *Levy D. E.* Induction of type I and III interferon in response to viral infection / D. E. Levy, I. J. Marie, J. E. Durbin // Curr. Opin. Virol. 2011. V. 1. p. 476—486. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2011.11.001>
17. *Mordstein M.* Lambda Interferon reders epithelial cells of respiratory and gastrointestinal tracts resistant to viral infections / M. Mordstein, E. Neugebauer, V. Ditt, B. Jessen, T. Rieger, V. Falcone, F. Sorgeloos, S. Ehl, D. Mayer, G. Kochs, M. Schwemmler, S. Günther, C. Drosten, T. Michiels, P. Staeheli // J. Virol. 2010. V. 11. p. 5670—5677. <https://doi.org/10.1128/JVI.00272-10>
18. *Patel K.* Relationships among bedding materials, bedding bacteria counts, udder hygiene, milk quality, and udder health in US dairy herds / K. Patel, S. M. Godden, E. Royster, B. A. Crooker, J. Timmerman, L. Fox // J Dairy Sci. 2019. Nov; 102 (11). p. 10213—10234.
19. *Rivera A.* Interferon lambda’s new role as regulator of neutrophil function / A. Rivera // J. Interferon Cytokine Res. 2019. V. 39 (10). p. 609—617. <https://doi.org/10.1089/jir.2019.0036>

20. *Schukken Y. H.* Host-response patterns of intramammary infections in dairy cows / Y. H. Schukken, J. Günther, J. Fitzpatrick, M. C. Fontaine, L. Goetze, O. Holst, J. Leigh, W. Petzl, H. — J. Schuberth, A. Sipka, D. G. E. Smith, R. Quesnell, J. Watts, R. Yancey, H. Zerbe, A. Gurjar, R. N. Zadoks, H. — M. Seyfert // *Vet Immunol Immunopathol.* 2011. Dec 15; 144 (3—4). p. 270—289.

21. *Shabunin S. V.* Significance of physiological and technological factors in development of mastitis in lactating cows / S. V. Shabunin, N. T. Klimov, A. G. Nezhdanov // *Reproduction in Domestic Animals.* 2017. T. 52. No. S3. p. 133.

22. *Shaldzhyan A.* Clean and folded: Production of active, high quality recombinant human interferon- $\lambda 1$ / A. Shaldzhyan, Ya. Zabrodskaya, N. Yolshin, T. Kudling, A. Lozhkov, M. Plotnikova, E. Ramsay, A. Taraskin, P. Nekrasov, M. Grudinina, A. Vasin // *Process Biochemistry.* 2021. V. 111. p. 32—39.

23. *Souza F. N.* Immune response in nonspecific mastitis: what can it tell us? / F. N. Souza, M. G. Blagitz, C. F. Batista, P. V. Takano, R. G. Gargano, S. A. Diniz, M. X. Silva, J. A. Ferronato, K. R. Santos, M. B. Heinemann, S. De Vlieghe, A. M. M. P. Della Libera // *J Dairy Sci.* 2020. Jun; 103 (6). p. 5376—5386.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

V. I. Zimnikov — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Scientific Associate;

T. I. Ermakova — Candidate of Biological Sciences, Scientific Secretary.

The article was submitted 17.10.2024.

УСЛОВИЯ ПУБЛИКАЦИИ И ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ

УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ!

Редакция журнала «Ветеринарный фармакологический вестник» Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии приглашает научных сотрудников, преподавателей вузов, соискателей ученых степеней и практикующих специалистов для публикации результатов экспериментальных исследований, теоретических и обзорных статей, касающихся актуальных вопросов ветеринарной фармакологии.

Цель журнала «Ветеринарный фармакологический вестник» — представление основных направлений развития ветеринарной фармакологии, привлечение внимания научных работников и специалистов к актуальным проблемам, продвижение инновационных разработок.

Основные тематические направления журнала:

1. Экспериментальная фармакология.
2. Клиническая фармакология.
3. Биохимическая и молекулярная фармакология.
4. Фармация.
5. Новые лекарственные средства и препараты для терапии и профилактики болезней.
6. Средства зоогигиены, дезинфекции, дезинсекции и дератизации.
7. Лечебные премиксы и кормовые добавки.
8. Патофизиология, патобиохимия и экспериментальная терапия.

Тематическое содержание журнала может меняться в зависимости от текущих задач науки и практики.

УСЛОВИЯ ПУБЛИКАЦИИ

Авторам необходимо предоставить в редакцию следующие материалы:

1. Статью, оформленную в соответствии с требованиями, на почту vetfarm.journal@yandex.ru («В редакцию журнала «Ветеринарный фармакологический вестник»).

Материал, предлагаемый для публикации, должен быть тщательно **отредактирован и подписан всеми авторами**.

Статьи, направляемые в редакцию, проходят рецензирование и выносятся на рассмотрение редколлегии. При необходимости редакция связывается с авторами по телефону или электронной почте. По результатам обсуждения принимается решение о возможности включения статьи в журнал, об отказе или доработке.

Статья, направленная автору на доработку, должна быть возвращена в исправленном виде в максимально короткие сроки. К рукописи необходимо приложить письмо от авторов, содержащее ответы на все замечания. Статья, требующая повторной доработки, рассматривается как вновь поступившая. При этом датой поступления считается дата получения редакцией окончательного варианта статьи.

Плата с авторов за публикацию не взимается.

Авторское вознаграждение за размещение статей в печатной и электронной версии журнала авторам статей не выплачивается.

Материалы, поступившие в редакцию, авторам не возвращаются.

2. Сведения об авторах:

Фамилия, имя, отчество

Ученая степень

Ученое звание

Должность

Полное название организации

Адрес, телефон, e-mail

Отдельно необходимо указать лицо и его контактные данные, с которым редакция будет вести переговоры и переписку.

3. Направление от учреждения, в котором выполнена работа по форме:

В редакцию журнала «Ветеринарный фармакологический вестник»	
Прошу (просим) опубликовать в открытой печати мою (нашу) статью «_____».	
Материалы статьи частично или полностью не были ранее опубликованы*.	
Авторы подтверждают достоверность и оригинальность материалов, изложенных в статье; дают согласие на сбор, обработку и распространение своих персональных данных в соответствии с требованиями Федерального закона № 152-ФЗ от 27 июля 2006 года «О персональных данных»; гарантируют, что не нарушают ничьих авторских прав; не включают материалы, не подлежащие к публикации в открытой печати в соответствии с действующим законодательством Российской Федерации.	
Вместе со статьей автор передает редакции на неограниченный срок следующие права: право на размещение, воспроизведение и распространение статьи любым способом; право на переработку статьи и внесение изменений в статью; право на публичное использование материалов статьи и демонстрацию их в информационных, рекламных и прочих целях.	
Также авторы подтверждают, что согласны с правилами редакции по подготовке рукописи к изданию. После публикации ее цитирование возможно только со ссылкой на журнал «Ветеринарный фармакологический вестник».	
_____	_____
подпись (подписи) автора (авторов)	фамилия, имя, отчество
Подпись (подписи) _____ заверяю.	

подпись и ФИО лица, заверившего подписи	
М.П. организации	
«__» _____ г.	

* Если были опубликованы частично, то указать название издания, год выпуска, номер, страницы.

Для ускорения публикации статьи в редакцию необходимо предоставить рецензию доктора наук, заверенную в отделе кадров по месту работы.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ

Текст статьи объемом до 15 страниц предоставляется в программе Microsoft Word: шрифт — Times New Roman, кегль — 14 пт, межстрочный интервал — 1,5, абзацный отступ — 1,25, без переносов. Формат страницы — А4; поля: левое — 3 см, верхнее, правое и нижнее — 2 см.

Элементами издательского оформления статей являются:

- сведения об издании, в котором опубликована статья;
- название рубрики или раздела издания;
- тип статьи (научная статья, обзорная статья, редакционная статья, дискуссионная статья, персоналии, редакторская заметка, рецензия на книгу, рецензия на статью, спектакль и т. п., краткое сообщение);
- индекс Универсальной десятичной классификации (УДК);
- цифровой идентификатор объекта (Digital Object Identifier — DOI); его приводят по ГОСТ Р ИСО 26324 и располагают после индекса УДК отдельной строкой слева. В конце DOI точку не ставят;
- заглавие статьи;
- подзаголовочные данные статьи;
- сведения об авторе (авторах);

- аннотация (резюме);
- ключевые слова (словосочетания);
- благодарности;
- знак охраны авторского права;
- перечень затекстовых библиографических ссылок;
- сведения о продолжении или окончании статьи;
- приложение (приложения);
- примечания;
- дата поступления рукописи в редакцию издания, дата одобрения после рецензирования, дата принятия статьи к опубликованию.

Дополнительно могут быть приведены:

- библиографическая запись на статью для дальнейшего цитирования;
- сведения о вкладе каждого автора, если статья имеет несколько авторов;
- указание об отсутствии или наличии конфликта интересов и детализация такого конфликта в случае его наличия.

Слова и словосочетания в элементах издательского оформления статьи не сокращают, кроме сведений об ученой степени и звании автора, слов и словосочетаний в библиографических ссылках и списках по ГОСТ 7.11, ГОСТ Р 7.0.12.

Основной текст статьи может быть структурирован и состоять из следующих частей:

- введение;
- текст статьи (с выделением разделов «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение» и др.);
- заключение.

Допускается деление основного текста статьи на тематические рубрики и подрубрики.

Надписи и подписи к иллюстративному материалу приводят на языке текста статьи и, как правило, повторяют на английском языке. Основной текст статьи в издании может быть только на одном языке. Смешивать в одной статье текст на двух языках не допускается.

До основного текста статьи приводят на языке текста статьи и затем повторяют на английском языке следующие элементы издательского оформления: сведения об издании, в котором опубликована статья, название рубрики или раздела, тип статьи, ее заглавие и подзаголовочные данные, основные сведения об авторе (авторах), аннотацию, ключевые слова, благодарности, библиографическую запись для цитирования. Имена приводят в транслитерированной форме на латинице по ГОСТ 7.79 или в той форме, в какой ее установил автор или редакция издания.

После основного текста статьи приводят на языке текста статьи и затем повторяют на английском языке следующие элементы издательского оформления: дополнительные сведения об авторе (авторах), сведения о вкладе каждого автора, указание об отсутствии или наличии конфликта интересов и детализация такого конфликта в случае его наличия, а также даты поступления рукописи в редакцию, одобрения после рецензирования, принятия статьи к опубликованию.

Основные сведения об авторе содержат:

- имя, отчество, фамилию автора (полностью);
- наименование организации (учреждения), ее подразделения, где работает или учится автор (без обозначения организационно-правовой формы юридического лица: ФГБУН, ФГБОУ ВО, ПАО, АО и т. п.);
- адрес организации (учреждения), ее подразделения, где работает или учится автор (город и страна);
- электронный адрес автора (e-mail);
- открытый идентификатор ученого (Open Researcher and Contributor ID — ORCID) (при наличии). Адрес организации (учреждения), где работает или учится автор, может быть указан в полной форме. Электронный адрес автора приводят без слова «e-mail», после электронного адреса точку не ставят. ORCID приводят в форме электронного адреса в сети Интернет. В конце ORCID точку не ставят. Наименование организации (учреждения), ее адрес, электронный адрес и ORCID автора отделяют друг от друга запятыми.

В случае, когда автор работает (учится) в нескольких организациях (учреждениях), сведения о каждом месте работы (учебы), указывают после имени автора на разных строках и связывают с именем с помощью надстрочных цифровых обозначений.

Если у статьи несколько авторов, то сведения о них приводят с учетом нижеследующих правил. Имена авторов приводят в принятой ими последовательности.

Автор, ответственный за переписку, и его электронный адрес могут быть обозначены условным изображением конверта, в электронных изданиях — также и другими средствами, реализуемыми программным обеспечением публикации издания.

Возможно приведение электронного адреса только одного автора, с которым планируется переписка, или отдельное указание автора для корреспонденции по форме: «Автор, ответственный за переписку:» («Corresponding author:»).

Дополнительные сведения об авторе (авторах) могут содержать:

— полные имена, отчества и фамилии, электронные адреса и ORCID авторов, если они не указаны на первой полосе статьи;

— ученые звания;

— ученые степени;

— другие, кроме ORCID, международные идентификационные номера авторов. Дополнительные сведения об авторе (авторах) приводят с предшествующими словами «Информация об авторе (авторах)» («Information about the author (authors)») и указывают в конце статьи после «Списка источников».

Сведения о месте работы (учебы), электронные адреса, ORCID авторов указывают после имен авторов на разных строках и связывают с именами с помощью надстрочных цифровых обозначений Индекс УДК располагается в левом верхнем углу без абзацного отступа.

Далее без абзацного отступа располагается название статьи — заглавными буквами, полужирным шрифтом, выравнивание по центру.

Фамилия, имя, отчество автора — без абзацного отступа, по центру, строчными буквами, полужирным шрифтом.

Аннотацию формируют по ГОСТ Р 7.0.99. Объем аннотации не превышает 250 слов. Перед аннотацией приводят слово «Аннотация» («Abstract»).

Ключевые слова (словосочетания) должны соответствовать теме статьи и отражать ее предметную, терминологическую область. Не используют обобщенные и многозначные слова, а также словосочетания, содержащие причастные обороты.

Количество ключевых слов (словосочетаний) не должно быть меньше 3 и больше 15 слов (словосочетаний). Их приводят, предваряя словами «Ключевые слова:» («Keywords:»), и отделяют друг от друга запятыми. После ключевых слов точку не ставят.

После ключевых слов приводят слова благодарности организациям (учреждениям), научным руководителям и другим лицам, оказавшим помощь в подготовке статьи, сведения о грантах, финансировании подготовки и публикации статьи, проектах, научно-исследовательских работах, в рамках или по результатам которых опубликована статья.

Эти сведения приводят с предшествующим словом «Благодарности:». На английском языке слова благодарности приводят после ключевых слов на английском языке с предшествующим словом «Acknowledgments:».

Текст статьи должен включать введение (без указания названия раздела), материалы и методы, результаты исследований, обсуждение и выводы (заключение).

Библиографическую запись для пристатейного библиографического списка составляют по ГОСТ 7.80, ГОСТ Р 7.0.100.. Ссылки на источники даются по тексту цифрой в квадратных скобках и указываются в порядке цитирования. В списке литературы желательно наличие как минимум 20 % иностранных источников и включение в список современных авторов.

Таблицы должны быть выполнены в Microsoft Word и содержать статистически обработанный материал. Каждая таблица должна иметь номер, тематический заголовок и ссылку в тексте.

Графики, диаграммы, рисунки и фотографии необходимо предоставлять в формате jpeg, tif или gif (с разрешением не менее 300 точек) с соответствующими подписями и пронумерованными.

Сокращения терминов, отличные от нормированных, должны приводиться только после упоминания в тексте их полного значения.

Единицы измерений даются в соответствии с Международной системой СИ по ГОСТ 8.417—2002 «Единицы величин».

